

**Previsão do estado de maturação, qualidade e relação do
potencial de conservação com o índice de maturação
medido com o ‘DA-meter’ em pera ‘Rocha’**

Rafael Capinha Blanc Gomes

Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Agrónómica – ramo Hortofruticultura e Viticultura

Orientador (es): Professora Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira
Mestre Filipe Jorge Pereira da Silva

Júri:

Presidente: Doutor Henrique Manuel Filipe Ribeiro, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Vogais: Doutora Cristina Moniz Simões Oliveira, Professora Associada com Agregação do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Doutora Mariana da Silva Gomes Mota, Técnica Superior do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

Agradecimentos

À Professora Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira por todo o apoio, atenção, amizade e dedicação neste desafio. Do princípio ao fim, foi fundamental para a elaboração desta dissertação.

Ao Eng.º Filipe Jorge Pereira da Silva por todo o aconselhamento, apoio e ajuda na escolha das amostras, na explicação dos mecanismos de conservação e todos os outros conhecimentos transmitidos. O impulsionador desta dissertação.

À Doutora Mariana Mota por todos os conselhos, amabilidade na disponibilidade dos ensinamentos que me facultou e por todo o apoio prestado.

Ao professor doutor Domingos Almeida e ao investigador Adriano Saquet, por todos os conhecimentos transmitidos e auxílio na realização do trabalho prático.

Ao Centro de Produção e Comercialização Hortofrutícola, Lda, e a toda a equipa, pela disponibilidade e prontidão em fornecer-me o material vegetal e apoio ao longo de todo o percurso.

À empresa Nutea, em especial ao Miguel Sainhas, por me ter facultado o DA-meter para a realização deste trabalho.

À minha família, em especial aos meus pais que tudo deram para que chegasse aqui.

A todos os amigos, pela ajuda e amizade durante a realização deste trabalho. Um obrigado especial ao Tiago Comporta.

A todos os professores e funcionários do Instituto Superior de Agronomia, por todos os ensinamentos, todos os conselhos, por toda a ajuda que sempre prontamente me prestaram, e que me impulsionaram a curiosidade, a ir sempre cada vez mais longe, ao longo destes anos.

A todas as pessoas que, de alguma forma, contribuíram para este trabalho, o meu sincero obrigado!

Resumo

Foi utilizado o DA-meter, um dispositivo portátil e não destrutivo para avaliação da maturação dos frutos. O DA meter mede conteúdo de clorofila- α através de um índice (I_{AD}) (índice da diferença da absorvância entre 720 e 670 nm). Para usar o I_{AD} , como índice de maturação dos frutos e avaliar a correlação da maturação com acidentes fisiológicos pós-colheita, foram colhidos frutos de três pomares de pera 'Rocha' (pomares A, B, C) em 8 datas durante 7 semanas. À colheita, os frutos foram separados em três classes de I_{AD} (1.4-1.6, 1.6-1.8 e 1.8-2.0). Os frutos foram armazenados em atmosfera normal (AN) durante 23 semanas e em atmosfera controlada dinâmica (ACD) durante 31 semanas. A qualidade dos frutos foi avaliada à colheita e após conservação. Após conservação a incidência de escaldão superficial e de acastanhamento interno foi avaliada. À colheita, o índice I_{AD} relacionou-se com a firmeza e taxa de produção de etileno ($r = 0,74$ e $R^2 = 76$, respectivamente), mas a relação com o teor em sólidos solúveis e tamanho do fruto foi baixa ($r = 0,10$ e $0,45$, respectivamente). Em AN, os frutos da classe 1.4-1.6 de I_{AD} , para os pomares A e B, apresentaram uma média de 13,1% dos frutos com escaldão superficial e 11,1% de acastanhamento interno, os melhores resultados foram de frutos do pomar C da classe 1.8-2.0 de I_{AD} , com 0,8% e 9,2% de frutos com escaldão superficial e acastanhamento interno, respectivamente. Os frutos de ACD, do pomar B da classe 1.8-2.0 de I_{AD} , apresentaram a menor incidência de acastanhamento interno (6,15%). Estes resultados mostram que o pomar tem uma forte influência sobre os acidentes fisiológicos e o índice I_{AD} pode ser insuficiente para ser usado como único critério para estabelecer a data da colheita e prever o nível de incidência de acidentes fisiológicos.

Palavras-chave: espectroscopia Vis/NIR, desordens fisiológicas, DA-meter, maturação, métodos não destrutivos.

Abstract

The DA-meter, a portable and non-destructive device for evaluation of fruit maturation, was used. The DA-meter measures chlorophyll nondestructively and gives an I_{AD} index (index of the absorption difference between 670 and 720 nm). In order to use I_{AD} , as a fruit maturity evaluator and to assess the correlation of fruit maturation on post-harvest physiological disorders, fruits from three 'Rocha' pear orchards (A, B, C orchards) were harvest on 8 dates during 7 weeks. At harvest, the fruits were separated into three classes of I_{AD} (1.4-1.6, 1.6-1.8 and 1.8-2.0, class I, II and III, respectively). The fruits were stored in a normal atmosphere storage (NA) for 23 weeks and in a dynamic controlled atmosphere (DCA) for 31 weeks. Standard quality parameters of the fruits were evaluated at harvest and after storage. At 7 days of shelf life after storage, superficial scald and internal browning fruit incidence were evaluated. At harvest, the I_{AD} index was highly related with firmness and ethylene production rate ($r = 0.74$ and $R^2 = 0.76$ respectively) but poorly correlated with total sugar content and fruit size ($r = 0.10$ and 0.45 , respectively). Regarding NA storage, with the exception of orchard C, the fruits of I_{AD} class 1.4-1.6, for orchards A and B, average 13.1% fruits with superficial scald and 11.1% with internal browning and the best results were from fruit of the orchard C of the I_{AD} class 1.8-2.0, with 0.8% and 9.2% of superficial scald and internal browning, respectively. Considering DCA, fruits from orchard B and I_{AD} class 1.8-2.0, showed the lowest incidence of internal browning (6.15%). These results show that the orchard has a strong influence on physiological disorders and the I_{AD} index may be insufficient to be used as the only criterion to set the harvest date and predict the level of incidence of physiological disorders.

Keywords: Vis / NIR spectroscopy, physiological disorders, DA-meter, maturation, non-destructive methods

Índice

Agradecimentos	ii
Resumo.....	iii
Abstract.....	iv
Índice	v
Índice de Quadros	vii
Índice de Figuras.....	viii
Lista de abreviaturas	x
1. Introdução	1
2. Revisão Bibliográfica.....	3
2.1. A pera ‘Rocha’	3
2.1.1. O fruto.....	3
2.1.2. A importância económica	4
2.1.3. O armazenamento	5
2.1.3.1 Atmosfera de Frio Normal.....	5
2.1.3.2 Atmosfera Controlada.....	6
2.1.2. Principais problemas de qualidade e conservação	10
2.2. Acidentes fisiológicos	11
2.2.1. Acastanhamento interno	11
2.2.1.1. Fatores de pré-colheita.....	17
2.2.1.2. Fatores de pós-colheita	18
2.2.2. Escaldão superficial	19
2.2.2.1. Fatores de pré-colheita.....	25
2.2.2.2. Fatores de pós-colheita	26
2.3. A maturação e a determinação da data de colheita	28
2.3.1. Índices de maturação.....	29
2.3.2. Fatores de pré-colheita	33
2.3.3. Índices de maturação não destrutivos.....	36
DA meter.....	38
3. Material e Métodos.....	40
3.1 Localização e caracterização da unidade de experimentação.....	40
3.1.1 Localização	40
3.1.2 Gestão dos pomares	40
3.1.3 Solo.....	40
3.1.4 Caracterização do material vegetal	41
3.2 Delineamento experimental.....	41
3.2.1 Ensaio de campo.....	42

3.2.2 Ensaio de central.....	43
3.3 Condições de armazenamento	44
3.4 Métodos de determinação das características de qualidade	45
3.3.1 Peso	45
3.3.2 Calibre.....	45
3.3.3 I _{AD}	45
3.3.4 Cor	46
3.3.5 Firmeza da polpa.....	47
3.3.6 Teor em sólidos solúveis - °Brix.....	47
3.3.7 Amido	48
3.3.8 Acidez titulável	48
3.3.9 Vitamina C.....	49
3.3.10 Fenóis	49
3.3.11 Etileno	50
3.3.12 Acastanhamento interno.....	51
3.3.13 Escaldão	52
3.5 Análise estatística	53
4. Resultados e Discussão.....	54
4.1 Ensaio de campo.....	54
4.1.1 Caracterização dos frutos em diferentes datas de colheita.....	54
4.1.2 Caracterização dos frutos à colheita.....	63
4.2 Ensaio de central	64
4.2.1 Caracterização dos frutos conservados em atmosfera normal.....	64
4.2.2 Caracterização dos frutos conservados em atmosfera controlada dinâmica.....	72
5. Conclusão	79
Referências Bibliográficas	80
Anexos	93

Índice de Quadros

Quadro 1 - Qualidade alimentar da pera 'Rocha' ..	4
Quadro 2 - Quantidade de minerais e vitaminas presente na pera 'Rocha'.....	4
Quadro 3 - Caracterização do delineamento experimental do ensaio de campo	42
Quadro 4 – Esquematização da divisão das classes de I_{AD} por pomar.....	43
Quadro 5 - Caracterização dos dois tipos de conservação	43
Quadro 6 - Parametrização das análises efetuadas em cada lote no ensaio de central	44
Quadro 7 – Caracterização dos frutos colhidos a 14-08-2015, parâmetros quantificados: peso, diâmetro, I_{AD} , cor, firmeza, °brix e amido.....	63
Quadro 8 - Caracterização dos frutos colhidos a 14-08-2015, parâmetros quantificados: acidez, vitamina c e fenóis.....	64
Quadro 9 - Pomar A - Barreiras.....	65
Quadro 10 - Pomar A - Barreiras.....	66
Quadro 11 - Pomar B - Freiria	67
Quadro 12 - Pomar B – Freiria	67
Quadro 13 -- Pomar C - Tamuge.....	68
Quadro 14 - Pomar C - Tamuge	69
Quadro 15 - Caraterização dos frutos segundo I_{AD} e etileno conservados em atmosfera de frio normal	70
Quadro 16 - Pomar A - Barreiras.....	72
Quadro 17 - Pomar A - Barreiras.....	73
Quadro 18 - Pomar B - Freiria	74
Quadro 19 - Pomar B - Freiria	74
Quadro 20- Pomar C - Tamuge	75
Quadro 21 – Pomar C – Tamuge.....	75
Quadro 22 - Pomar C - Tamuge	76
Quadro 23 - Caraterização dos frutos segundo I_{AD} e etileno conservados em atmosfera controlada dinâmica.	77
Quadro A24 - Caracterização dos pomares da unidade de experimentação	94
Quadro A25 - Análise sumária dos solos dos pomares envolvidos no estudo..	94
Quadro A26 - Análise do complexo de troca dos pomares envolvidos no estudo..	94
Quadro A27 - Análise dos micronutrientes e macronutrientes do solo dos pomares envolvidos no estudo.....	95
Quadro A28 - Análises foliares, aos teores de macronutrientes, dos pomares envolvidos no estudo.	95
Quadro A29 - Análises foliares, aos teores de micronutrientes, dos pomares envolvidos no estudo.	95
Quadro A30 - Análises aos frutos, ao conteúdo em matéria seca e macronutrientes	96
Quadro A31 - Análises aos frutos, ao conteúdo em micronutrientes.....	96

Índice de Figuras

Figura 1 - Fruto com sintomas de acastanhamento interno.	12
Figura 2 - Fruto com sintomas de escaldão superficial.	20
Figura 3 - Medição do peso dos frutos utilizando uma balança KERN S72	45
Figura 4 - Medição do calibre com uma craveira Mahr 16 EX.....	45
Figura 5 - Medição do I_{AD} do fruto com utilização do DA-meter	46
Figura 6 - Medição da cor do fruto.....	46
Figura 7 - Medição da dureza da polpa com uso de um penetrómetro TR Turoni FT 327. (a) Remoção de casca do fruto com lâmina. (b) Método de inserção do penetrómetro na polpa.	47
Figura 8 - Aparelho para medição do teor em sólidos solúveis, Hanna HI 96801	47
Figura 9 - Análise ao amido utilizando solução de iodo. (a) Solução de iodo. (b) Peras a secar. (c) Aspeto das peras coradas com iodo.	48
Figura 10 - Metodologia usada para determinar a acidez titulável. (a) Centrifugação do sumo. (b) Titulação com potenciómetro e termómetro.....	49
Figura 11 – Metodologia utilizada para a determinação da vitamina C.	49
Figura 12 - Método utilizado para a determinação do teor de fenóis. a) Preparação das cuvets com sumo e água desionizada. b) Espectrofotómetro GeneQuant Pro RNA/DNA Calculator	50
Figura 13 - Metodologia utilizada na medição do etileno. a) Cromatógrafo de gás Thermo Scientific ISQ com Trace 1300. b) Preparação das amostras em frascos fechados. c) Aclimatização das amostras.	51
Figura 14 - Classificação do acastanhamento	52
Figura 15 - Classificação do escaldão	53
Figura 16 - Evolução do I_{AD} durante a maturação.....	54
Figura 17 - Evolução do calibre em mm durante a maturação.....	55
Figura 18 - Evolução do peso em gramas durante a maturação.....	55
Figura 19 - Evolução da cor em $^{\circ}$ Hue durante a maturação.	56
Figura 20 - Evolução da firmeza em kg/0,5cm ² durante a maturação.....	57
Figura 21 - Evolução do teor em sólidos solúveis em % Brix durante a maturação..	58
Figura 22 - Evolução do amido durante a maturação..	58
Figura 23 - Evolução da acidez em g de ácido málico / L de ácido málico durante a maturação.....	59
Figura 24 - Evolução da vitamina C, expressa em mg de ácido ascórbico/100 mL de sumo, durante a maturação..	60
Figura 25 - Evolução dos fenóis expressos em mg de ácido gálico/100mL de sumo durante a maturação..	60
Figura 26 - Relação entre o I_{AD} e a taxa de produção de etileno (μ l/kg/h) para os 3 pomares em estudo..	62
Figura 27 - Relação entre o índice de Streif e o I_{AD}	63
Figura 28 - Índice de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD}	71
Figura 29 - Índice de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD}	78
Figura A30 - Parcelas (a) "Barreiras", (b) "Freiria" e (c) "Tamuge" com respetiva unidade de experimentação assinalada a vermelho. Fonte: GoogleMaps.....	93

Figura A31 – Percentagem de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD} conservados em atmosfera de frio normal.	97
Figura A32 – Percentagem de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD} conservados em atmosfera controlada dinâmica.	97

Lista de abreviaturas

AA – ácido ascórbico

AC – atmosfera controlada

ACD – atmosfera controlada dinâmica

AI – acastanhamento interno

APX – ascorbato peroxidase

CAT- catálase

DHA – ácido dehidroascórbico

EROs – espécies reativas de oxigénio

FN – frio normal

HR – humidade relativa

POX – peroxidase

PPO – polifenoloxidase

SOD- superóxido dismutase

TSS – teor em sólidos solúveis

1. Introdução

A pera *Pyrus communis* L. cv 'Rocha' é das culturas fruteiras mais importantes em Portugal. É em Portugal que se situa quase toda a sua produção mundial, cerca de 99%, e é na região Oeste de Portugal, desde Sintra até Leiria, que se localiza 95% da produção (ANP, 2017a). É nesta região, com as suas condições edafoclimáticas únicas, que a cultivar 'Rocha' expressa todo o seu potencial conduzindo à classificação de um produto DOP (Denominação de Origem Protegida) (ANP, 2017a).

A pera 'Rocha' nesta região desempenha um papel socioeconómico muito importante, sendo a fonte de sustento de muitos agricultores e famílias. No entanto, a importância da cultura não é só de uma região, mas sim nacional, pois segundo os últimos dados da Associação Nacional de Produtores de pera 'Rocha' (ANP) entre janeiro e novembro de 2017, as exportações de pera Rocha chegaram aos 82,4 milhões de euros, espera-se agora alcançar um valor total de 100 milhões de euros em 2019, o que corresponde a um crescimento de 21% face ao valor atual das vendas internacionais de pera Rocha (FLF, 2018). Em 2015, Foram produzidas 133 mil toneladas de pera Rocha (INE, 2017), das quais 71 mil toneladas foram exportadas para países como o Brasil, Reino Unido, França, Marrocos e Alemanha (FLF, 2016).

A pera 'Rocha' geralmente é colhida em agosto, para ser exportada durante quase todo o ano, mas isso implica um armazenamento por cerca de dez meses. O armazenamento prolongado pode levar à ocorrência de acidentes fisiológicos, como escaldão superficial e acastanhamento interno, levando a perdas económicas. Estes acidentes fisiológicos acontecem devido às condições impostas durante a conservação, nomeadamente as temperaturas baixas, as baixas concentrações de O₂ e altas de CO₂ (Frank *et al.* 2007; Lurie e Watkins, 2012). Até 2013, a difenilamina (DPA) controlava de forma eficiente o escaldão superficial, mas também reduzia os acastanhamentos internos (Almeida, 2017). Com a sua retirada do mercado, os fatores de pré e pós colheita, que suscetibilizam os frutos para aparecimento destas desordens, começam a ter elevada importância no sucesso da conservação, sendo um dos fatores mais preponderantes, a maturação dos frutos (Ferguson *et al.*, 1999)

O estado de maturação dos frutos à colheita tem um papel determinante, tanto na qualidade final, como no potencial de armazenamento. Contudo, os métodos utilizados para a determinação da maturação e qualidade são processos morosos, destrutivos e por vezes inconsistentes para a tomada de decisão. Tendo em conta estas limitações, a introdução do DA-meter, um aparelho portátil e não destrutivo, que fornece um novo índice, o I_{AD}, altamente correlacionado com o conteúdo de clorofila- α (Ziosi *et al.*, 2008), que por sua vez se relaciona com a maturação (Knee, 1972; Knee, 1980; Solovchenko *et al.*, 2005).

Neste contexto, o objetivo principal deste trabalho consiste em utilizar o I_{AD} como índice de maturação para determinar a época ideal de colheita e segregar lotes para conservação. Irá ser realizado um ensaio de campo, com o objetivo de acompanhar a evolução da maturação com utilização de diversos parâmetros de qualidade, e com o I_{AD}. Um ensaio de central fruteira, com o objetivo de caracterizar qualitativamente os lotes segregados com o I_{AD}.

Esta dissertação pretende responder às seguintes questões:

O I_{AD} pode ser utilizado para prever a data de maturação da pera 'Rocha'?

Poderá ser utilizado para prever a qualidade?

O I_{AD} poderá ser usado para segregar lotes com diferente potencial de conservação? Isto é, poderemos usar este método não destrutivo para prever os acidentes fisiológicos de conservação em particular, o escaldão e o acastanhamento interno?

2. Revisão Bibliográfica

2.1. A pera ‘Rocha’

A pereira ‘Rocha’ pertence à família das rosáceas e espécie *Pyrus communis* L.

A cultivar ‘Rocha’ foi identificada em 1836, no concelho de Sintra, na propriedade do Senhor Pedro António Rocha. Comportava ser uma árvore diferente e com frutos de qualidade invulgar, que mais tarde levou a denominação de origem protegida (DOP), atualmente a “Pera Rocha do Oeste”. Uma cultivar Portuguesa concentrada na região Oeste, na orla marítima desde Sintra até Leiria (ANP, 2017a).

2.1.1. O fruto

O fruto da pereira ‘Rocha’ possui uma forma variável, sendo predominantes as formas redonda ovada, redonda piriforme, piriforme ovada e oblonga piriforme (ANP, 2009). A variação da forma dos frutos está relacionada com fatores genéticos e com a falta de sementes devido à partenocarpia da pera ‘Rocha’. Deste modo surgem formas mais arredondadas, quando existe uma boa polinização e formas mais alongadas aquando estímulo partenocárpico (Alexandre, 2001). A fossa apical é muito pouco pronunciada com a coroa clara, de superfície lisa e roseta divergente (ANP, 2009).

De acordo com as variadas formas que o fruto pode oferecer, o calibre, correspondendo ao diâmetro na maior secção de fruto, é variável, pelo que para o mesmo calibre se pode verificar alguma variação no peso dos frutos, conforme o seu maior ou menor alongamento, estando normalmente associado às aplicações de ácido giberélico ou à partenocarpia natural (Alexandre, 2001). Contudo, assume-se que o calibre médio para a pera ‘Rocha’ é entre 60 e 65 mm e um peso médio de 130g (ANP, 2009).

A epiderme do fruto é de cor amarelo-verde claro, apresenta uma carepa típica à volta do pedúnculo, menos acentuada na zona apical e com suaves pontuações dispersas pela superfície do fruto (Alexandre, 2001). A carepa está sempre presente, esta característica é típica desta cultivar (ANP, 2009). A intensidade desta carepa depende muito das condições climáticas do ano, dos tratamentos fitossanitários, da variação clonal, mas também das características do local de plantação (Alexandre, 2001). A epiderme com a sua cor amarela e/ou verde-claro, por vezes apresenta uma mancha tenuemente rosada do lado exposto ao sol (ANP, 2009).

A pera ‘Rocha’ apresenta um pedúnculo comprido, lenhoso e fino, contudo, pode aparecer frutos de pedúnculo curto durante a colheita (Alexandre, 2001). O pedúnculo tem um comprimento médio entre os 28 e 33 mm (ANP, 2009). Um dos fatores de desvalorização do fruto é a quebra do pedúnculo, esta acontece em maior quantidade quando as peras são retiradas do frio para calibrar e estes encontram-se bastante desidratados, devido a deficiências no processo de conservação (Alexandre, 2001).

A polpa do fruto caracteriza-se pela cor branca, macia-fundente, granulosa, doce, não ácida, sumarenta e de perfume ligeiramente acentuado (ANP, 2009).

Os Quadros 1 e 2 apresentam a qualidade alimentar e quantidade de minerais e vitaminas, respetivamente, para a pera ‘Rocha’.

Quadro 1 - Qualidade alimentar em 100 g de polpa de pera 'Rocha'. Fonte: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (1985), adaptado de Alexandre (2001).

Produto	Material Analisado	Parte edível %	Água (g)	Proteína (g)	Gordura (g)	Hidratos de carbono (g)	Celulose (g)	Valor Energético (cal)
Pera 'Rocha'	Polpa	78	85,5	0,2	0,5	9,4	0,9	43

Quadro 2 - Quantidade de minerais e vitaminas presente em 100 g de polpa de pera 'Rocha'. Fonte: Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge (1985), adaptado de Alexandre (2001).

Minerais						Vitaminas				
Produto	Cinza (g)	Cálcio (mg)	Fósforo (mg)	Ferro (mg)	Cobre (mg)	Caroteno (µg)	B1 (µg)	B2 (µg)	PP (mg)	C (mg)
Pera 'Rocha'	0,36	9	9	0,3	0,2	n.a.	30	24	0,7	2

A época de colheita da pera 'Rocha' normalmente decorre entre os meses de Agosto e Setembro, conforme o tipo de maturação desejado e o objetivo comercial (Alexandre, 2001). Tradicionalmente é feita na segunda semana de Agosto (ANP, 2009). Contudo, nos pomares em sequeiro o fruto tem tendência a adiantar, enquanto no regadio pode colher-se dias mais tarde, o mesmo se passa no Baixo Oeste em que a colheita começa mais cedo uma semana, passando-se o mesmo entre o interior e a orla marítima (Alexandre, 2001).

2.1.2. A importância económica

A produção de pera 'Rocha' está 99% localizada em solo Português, em que 95% se localiza na região Oeste nos principais concelhos de Alcobaça, Bombarral, Cadaval, Caldas da Rainha, Lourinhã, Mafra, Óbidos e Torres Vedras (ANP, 2017a)

A produção de pera no mundo em 2014 foi de 25,8 milhões de toneladas, em Portugal, em 2014, a produção foi de 210 mil toneladas no total das variedades cultivadas em Portugal (FAOSTAT, 2017). A cultivar 'Rocha', em 2014, representou cerca de 202 mil toneladas da produção nacional, registando-se o maior ano de produção desde 2012 até 2017 (ANP, 2017b). De acordo com o INE (2017) em 2015, para uma área de 12 mil hectares, a produção de pera, conjunto de todas as variedades, foi de 141 mil toneladas, o que representou um decréscimo de produção de 32,8 % relativamente a 2014. Segundo INE (2016), a quebra de produção de 2014/2015 foi resultado da falta de qualidade dos gomos florais, sobretudo em pomares com excesso de produção no ano anterior, e das condições meteorológicas adversas na fase de plena floração e vingamento. Durante a colheita, verificou-se o aparecimento de muitos frutos com sintomas de estenfiliose, o que inviabilizou a comercialização e armazenamento dos frutos. Verificou-se um aumento da percentagem de peras de calibre superior.

Na campanha 2015/2016, as vendas de pera Rocha renderam entre 130 a 140 milhões de euros. Foram produzidas 133 mil toneladas de pera Rocha, das quais 71 mil toneladas foram exportadas, ou seja 53%, o que representa um crescimento face à campanha de 2014/2015, quando as exportações corresponderam apenas a 50% da produção. Os principais países recetores destas exportações são o Brasil (29.135 toneladas), Reino Unido

(11.156 toneladas), França (9.126 t), Marrocos (8.135 t) e Alemanha (4.565 t). Além dos tradicionais mercados de destino da pera Rocha, têm surgido outros como Líbia, Emirados Árabes Unidos, Azerbaijão, Singapura, Cabo Verde, Gana, Nigéria e Sri Lanka (FLF, 2016).

2.1.3. O Armazenamento

Com a necessidade de satisfazer os clientes, é imprescindível o fornecimento de pera 'Rocha' todo o ano, para tal, o armazenamento tem de ser o mais eficaz possível. As principais vantagens do armazenamento são o controlo da transpiração, da respiração, das doenças e insetos (Rao, 2015).

2.1.3.1 Atmosfera de Frio Normal

A pera 'Rocha' possui um bom poder de conservação, e com técnicas culturais adequadas, conserva-se razoavelmente bem em atmosfera normal (Alexandre, 2001).

Os frutos frescos precisam de temperatura baixa e humidade relativa elevada para reduzir a respiração, diminuindo o metabolismo da fruta e preservando simultaneamente qualidade e características fisiológicas. Ao baixar a taxa metabólica, menos processos de maturação e senescência tomarão lugar e melhor conservadas ficarão as características do fruto à colheita. (Alexandre, 2001). Para conservação em atmosfera normal a humidade relativa deve manter-se entre os 92% e 95% (Alexandre, 2001).

Existem três variáveis importantes nas câmaras frigoríficas, a humidade relativa, a ventilação e a temperatura. A humidade relativa dentro da câmara deve ser alta, de forma a evitar desidratação dos frutos durante o armazenamento. A ventilação também é essencial para restaurar a atmosfera dentro da câmara. Embora o metabolismo dos frutos seja reduzido ao mínimo, durante o armazenamento ainda há consumo de oxigénio (O_2) e produção de dióxido de carbono (CO_2) e etileno (responsável pela maturação dos frutos), que precisam de ser substituídos e removidos, respetivamente. A circulação do ar garante o arrefecimento uniforme das frutas armazenadas, mas deve ser mantida lenta para evitar fenómenos de transpiração que possam causar perda de água com consequente desidratação dos frutos (Deuchande, 2016).

A temperatura da câmara deve ser mantida num nível ótimo para a cultura, pois temperaturas abaixo desse valor irão causar congelamento ou acidentes fisiológicos, temperaturas acima irão provocar perda de vida útil (Rao, 2015). A pera 'Rocha', sendo um fruto sensível à temperatura é normalmente armazenada a temperaturas entre -1 e 0 °C, atualmente, mais precisamente a -0,5 °C. (Cavaco, 2012; Deuchande, 2016), Alexandre (2001) refere temperaturas para conservação em atmosfera normal entre 0 e +1 °C, podendo sofrer ligeiras correções, conforme o teor de açúcares, baixando até -0,5 °C nas colheitas que registam valores refratométricos mais elevados. Contudo o abaixamento rápido da temperatura após a colheita é importante, pois desacelera os processos de maturação reduzindo assim o tempo durante o qual o fruto respira intensamente, perdendo água e elementos nutritivos (Alexandre, 2001).

É importante manter os parâmetros de refrigeração sob controlo rigoroso para garantir que, durante e após o armazenamento, bem como durante o tempo de prateleira à temperatura ambiente, os frutos mantêm a sua qualidade (Deuchande, 2016). Desta forma os

frutos armazenados em frio normal podem conservar-se por um período máximo de 5 meses em condições de segurança (Almeida, 2017).

2.1.3.2 Atmosfera Controlada

A atmosfera controlada é um conceito que refere uma atmosfera diferente da do ar normal (20-21% de O₂, 0,03% de CO₂, 78-79% de N₂ e um conjunto de outros gases vestigiais), em que a concentração dos gases está estritamente controlada durante todo o tempo, habitualmente as alterações são uma diminuição do O₂ e um aumento de CO₂ (Yahia, 2009)

A atmosfera controlada e as suas aplicações básicas na conservação de frutos e legumes já foram identificadas há mais de 200 anos, contudo só começou a ser usada comercialmente na primeira metade do século XX (Thompson, 2010).

Em 1993, Avelar (1994) realizou os primeiros ensaios de pera 'Rocha' em atmosfera controlada. Nestes ensaios foi avaliada a qualidade dos frutos com 4 e 7 meses de conservação em atmosfera normal comparativamente com atmosfera controlada, a 4 meses não houve diferenças entre as duas modalidades, mas a 7 meses em atmosfera normal os frutos mostraram-se com qualidade muito inferior (tosco, seco e insípido) aos frutos conservados em atmosfera controlada (suave e succulento), contudo estes mostraram ligeiras lesões provocadas pelo CO₂.

Mais tarde, outros ensaios aprovaram que a conservação de pera 'Rocha' em atmosfera controlada garante uma boa qualidade comercial e organolética, os frutos mantêm a cor verde da epiderme, o teor em sólidos solúveis não sofre alterações significativas durante a conservação e a pera, após saída das câmaras, inicia um processo de maturação fisiológica normal (Alexandre, 2001).

As culturas armazenadas em atmosfera controlada têm uma vida útil mais longa porque a taxa dos processos metabólicos é mais lenta. Principalmente com frutos climatéricos, a atmosfera controlada retarda o amadurecimento e a senescência (Thompson, 2010).

As principais vantagens da longa conservação em atmosfera controlada são: diminuição considerável da taxa de respiração, com redução do máximo climatérico, acompanhada por uma expansão dos períodos pré-climatéricos e pós-climatéricos; a redução da produção de etileno (baixo teor de O₂) e ação de etileno (alto teor de CO₂, temperatura baixa); prolongamento da vida útil, que pode ser duplicada; a preservação da firmeza, devido ao efeito do CO₂ nas enzimas que atuam sobre as membranas celulares; alta turgescência, de modo a que os frutos fiquem mais succulentos e crocantes; preservação dos atributos de qualidade: menor perda de acidez, açúcares e vitamina C; maior qualidade nutricional e sensorial, bem como uma menor degradação da clorofila, levando a uma maior retenção de cor; menos alterações fisiológicas; menos estragos causados por fungos (Deuchande, 2016).

Em atmosfera controlada, é necessário um bom controlo dos níveis de O₂, CO₂ e etileno, uma vez que estes gases têm um alto impacto na fisiologia do fruto durante o armazenamento, particularmente, durante a longa conservação (Deuchande, 2016).

Contudo, os efeitos da alteração dos níveis de O₂ e CO₂ na atmosfera variam de acordo com fatores como: a espécie e cultivar de cultura, a concentração de gases na câmara, temperatura da cultura, o estado de maturação à colheita, grau de amadurecimento dos frutos

climatéricos, as condições em que cresceram os frutos até à colheita, a presença de etileno na câmara, tratamentos pré-armazenamento (Thompson, 2010).

Almeida (2017) enumerou diversas práticas, a ter em conta, para o armazenamento da pera Rocha em atmosfera controlada, tais como: a segregação de lotes, tendo em conta o estado de maturação e potencial de conservação (fitotecnia do pomar, histórico e textura do solo, pois frutos provenientes de solos com textura ligeira têm um potencial mais baixo que solos de textura franca); o enchimento da câmara, deverá ser feito preferencialmente até 3 dias e num período inferior a 5 dias; a taxa de arrefecimento, a temperatura de polpa deve ser atingida num período inferior a 5 dias após a primeira carga; a colocação em regime da atmosfera controlada e a velocidade de redução de O₂.

Temperatura

Similarmente ao que acontece na atmosfera normal, em atmosfera controlada a temperatura desempenha um papel importante no metabolismo dos frutos, incluindo na respiração e no amadurecimento.

Geralmente, as reações biológicas aumentam duas a três vezes com o aumento de 10°C de temperatura, por isso é importante baixar ao máximo, de forma a prolongar a vida útil dos frutos, tendo em conta que existe um limite mínimo (Zagory & Kader, 1988). Note-se que um fruto com um teor em sólidos solúveis de 11%, o ponto de congelação é de -1,9 °C, mas para um fruto que 8% de sólidos solúveis a temperatura já só pode ser cerca de -1,3 °C (Almeida, 2017).

Segundo Alexandre (2001), conservar pera 'Rocha' em atmosfera controlada a uma temperatura na base de -0,5 °C a 0,5 °C, seria uma prática recomendada. Silva *et al.* (2006b) nos seus ensaios arrefeceram os frutos durante três dias até uma temperatura da polpa próximo de 0 °C, efetuando a conservação a -0,5 °C. Atualmente as recomendações não sofreram grandes alterações para o armazenamento prolongado da pera 'Rocha' em atmosfera controlada, a temperatura de armazenamento deve situar-se entre -1 e 0 °C com um gradiente no interior da câmara inferior a 0,5 °C (Almeida, 2017).

A pera 'Rocha' é um fruto sensível à temperatura, com estes valores de temperatura, é possível prolongar a vida útil dos frutos por um tempo superior, sendo temperaturas baixas por forma a controlar a taxa de respiração e o desenvolvimento de fungos, mas não demasiado a ponto de provocar lesões pelo frio (Morris & Brady, 2005).

Humidade relativa

Na maioria dos produtos hortofrutícolas a sua constituição é água, como é o caso da pera que possui cerca de 85,1 g / 100 g de parte edível do fruto (Instituto Ricardo Jorge, 2017). Desta forma a perda de água do fruto tem uma elevada importância, pois podem suceder prejuízos, tais como: perdas quantitativas (diminuição do peso, redução da vida pós-colheita, desvalorização de lotes) e perdas qualitativas (depreciação da aparência, aparecimento de danos causados por frio, depreciação da textura e depreciação do valor nutritivo) (Almeida, 2005). Por forma a reduzir as perdas de água, é necessário regular a humidade relativa nas câmaras.

Segundo Alexandre (2001) em pera 'Rocha' foram alcançados bons resultados em atmosfera controlada com humidade relativa superior a 95%. Contudo, valores acima de 95% de humidade relativa podem provocar condensação na câmara, levando a condições favoráveis ao desenvolvimento de fungos e por sua vez estragos (Zagory & Kader, 1988; Almeida, 2017).

Últimos estudos afirmam que, para uma longa conservação, os valores ideais são entre 93 e 95% de humidade relativa em câmara (Almeida, 2017).

CO₂ e O₂

A atmosfera controlada caracteriza-se pela alteração destes dois gases relativamente à atmosfera normal. Estes dois gases têm o efeito de prolongar a vida das culturas durante o armazenamento, este efeito pode aumentar quando o O₂ e o CO₂ são combinados (Thompson, 2010). Quando se reduz a concentração de O₂ e/ou aumenta a de CO₂ há uma redução da taxa de respiração e da produção de etileno, retardando as alterações de cor, firmeza, sabor e qualidade nutricional dos frutos (Kader, 1995). Individualmente, ao baixar a concentração de O₂, irá reduzir a produção de etileno nos frutos, pois há inibição de atividade da ACC oxidase (1-aminociclopropano-1-carboxílico oxidase), ao subir a concentração de CO₂ irá igualmente reduzir a produção de etileno pois há inibição da atividade da ACC sintase e ACC oxidase. (Kader, 1995).

Contudo, ao aumentar a concentração de CO₂, vai afetar a succinato desidrogenase que é uma enzima envolvida no processo respiratório, inibindo-o e induzindo o processo fermentativo (Knee, 1973). Vários autores mostram que o aumento de CO₂ altera os valores de pH citoplasmáticos, reduzindo-os, e essa redução de pH vai influenciar a atividade de muitas enzimas envolvidas no metabolismo respiratório, biossíntese de etileno e alterações de composição (Kader, 1995; Lange & Kader, 1997). Irá também haver uma acumulação de acetaldeído, etanol, acetato de etilo e / ou lactato, elementos tóxicos para as células (Kader, 1995). Segundo Lange & Kader (1988), os níveis de β-ATP de frutos climatéricos expostos a valores superiores de CO₂ foram reduzidos em relação à fruta exposta ao ar. Também Kerbel *et al.* (1988) mostraram que elevados níveis de CO₂ diminuíram a actividade de ATP e PPI fosfofrutoquinases, esta diminuição ocorreu na via glicolítica, o que poderia explicar a redução observada na respiração. Todas estas interferências na respiração do fruto irão levar a perdas consideráveis de energia, energia essa fundamental para a reparação e manutenção das células.

Quando diminuirmos a concentração de O₂, e sabendo que muitas das reações químicas das células são oxidativas, a atividade metabólica vai reduzir, sobretudo com os valores de O₂ a que são sujeitos. Se estes valores forem abaixo do limiar do ciclo do ácido tricarboxílico, este vai suspender a sua atividade, mas o processo glicolítico vai continuar, dando origem a acetaldeído e etanol que são tóxicos para as células quando acumulados (Thompson, 2016). Assim sendo, os níveis de O₂ não devem ser demasiado baixos de forma a evitar a fermentação. Os valores de O₂ normalmente usados em pera 'Rocha' são entre 2 e 3 kPa, apesar destes níveis serem muito superiores aos valores limite, pois os frutos toleram valores na faixa de 0,2 e 0,7 kPa para frutos climatéricos (Deuchande, 2016).

Em pera 'Rocha', inicialmente, em atmosfera controlada usavam-se valores de 4,1 kPa O₂ + 3,5 kPa CO₂, com estes valores conservavam-se peras até ao final de Março, mostrando apenas algumas lesões provocadas pelo CO₂ (Avelar, *et al.*, 1994). Em 2001, Alexandre (2001) recomenda valores da atmosfera controlada para a conservação da pera 'Rocha' de

2,5 kPa O₂ e de CO₂ entre 0,5 a 0,7 kPa. Em 2006, Silva *et al.* (2006b) nos seus trabalhos referem valores de 2,5 kPa O₂ e de 0,7 kPa de CO₂. Nas normas técnicas para a Produção Integrada, os valores de O₂ referidos são de 2 kPa e igualmente de 2 kPa para CO₂ (Cavaco, 2012). Atualmente recomenda-se níveis de O₂ entre 0,2 e 3,0 kPa, tendo em conta que o ótimo se situa entre 0,2 e 0,5 kPa, e níveis de CO₂ <0,7 kPa permitindo conservações até Junho (Almeida, 2017).

Não só os valores efetivos de O₂ e CO₂ a que os frutos são sujeitos são relevantes, o tempo que decorre até serem submetidos também é determinante em todo este processo. Segundo Cavaco (2012), deve-se baixar rapidamente a concentração do oxigénio (*pull down*) até 6 a 8 kPa, se possível em 24 horas e nos quatro a seis dias seguintes o O₂ deve alcançar 1 a 2 kPa e o CO₂, teores idênticos ou inferiores. Já Almeida (2017) refere que o regime de atmosfera controlada deve ser imposto logo após atingir a temperatura de polpa, a redução de O₂ deve ser rápida e sugere-se uma redução para valores inferiores a 3 kPa de O₂ em 24 horas e para 0,5 kPa O₂ em 5 dias.

Durante o período de funcionamento de atmosfera controlada os níveis de O₂ e de CO₂ devem ser constantes (Cavaco, 2012).

Etileno

O etileno é a hormona com o papel mais importante na vida útil das plantas. O etileno influencia diretamente a sua adaptação ao meio ambiente e reprodução, regulando processos como: germinação de sementes, primórdios de raízes, desenvolvimento de flores, amadurecimento de frutos, senescência e respostas a stresses bióticos e abióticos (exemplo stress hídrico e temperatura) (Lin *et al.*, 2009).

A exposição de frutos climatéricos, como é o caso da pera, ao etileno desencadeia um aumento da taxa respiratória e amadurecimento (Kader, 1995). Desta forma, a redução da sua produção é imprescindível para atrasar o início do climatérico e assim prolongar a vida útil dos frutos durante a conservação (Kader, 1995). Hiwasa *et al.* (2003) comprovaram também que o etileno não é meramente um subproduto, mas desempenha um papel crucial tanto na iniciação como na manutenção da regulação do processo de perda de firmeza durante o amadurecimento.

Relativamente à síntese do etileno, o frio tem uma capacidade indutora. Trabalhos mostram que, em peras durante 60 dias a - 1 °C, a taxa de síntese de etileno aumentou 100 vezes, mas a concentração de ácido 1-aminociclopropano-1-carboxílico (ACC) aumentou apenas 2 vezes e a atividade de ACC sintase foi baixa, após a transferência para 15 °C, após o armazenamento a - 1 °C, a síntese de etileno aumentou 10 vezes em 10 horas, mas a atividade da ACC-sintase aumentou rapidamente após 24 horas (Knee, 1987). Também Lelièvre *et al.* (1997) comprovaram que a expressão do gene da ACC sintase é regulada somente pelo etileno durante ou após a refrigeração, enquanto a expressão do gene da ACC oxidase pode ser induzida separadamente por refrigeração ou etileno. Estes trabalhos comprovam também o processo auto indutor do etileno, ou seja, etileno irá gerar mais etileno até um certo ponto, assim sendo, é necessário o seu controle.

Como já referido anteriormente a melhor forma de controlar o etileno é usando altas concentrações de CO₂ e baixas de O₂. O CO₂ retarda a maturação dos frutos ao deslocar o etileno do seu local recetor, a ligação do etileno também é impedida quando a concentração de O₂ é reduzida, explicando o atraso no amadurecimento do fruto em baixas concentrações

de O₂ (Burg & Burg, 1967). O CO₂ não inibe a produção de etileno por afetar a respiração, mas sim por impedimento da conversão da ACC para etileno através da inibição da ACC oxidase (Wild *et al.*, 2003).

2.1.2. Principais problemas de qualidade e conservação

A pera 'Rocha' apresenta diversas fragilidades, tanto no campo como no armazenamento.

No campo, a pera 'Rocha' apresenta a sua rusticidade, não revelando problemas de maior. Mostra alguma sensibilidade à carepa, ao toque das folhas e ramos pela ação do vento (Alexandre, 2001).

Durante a conservação, a pera 'Rocha' apresenta algumas fragilidades sobretudo após o armazenamento prolongado em câmaras frigoríficas e de atmosfera controlada.

Como já referido, as novas recomendações para conservação de pera 'Rocha' são a uma temperatura de armazenamento entre -1 e 0 °C, a humidade relativa situa-se entre 93 e 95%, os níveis de O₂ são de 0,2 a 0,5 kPa e os níveis de CO₂ <0,7 kPa (Almeida, 2017). São estes os valores que procuram manter a qualidade da pera 'Rocha' durante vários meses. Contudo, quando este período é alargado, podem surgir acidentes fisiológicos, como acastanhamentos internos e escaldão superficial. A ocorrência destes dois acidentes leva a uma grande desvalorização comercial dos frutos.

O cenário agravou-se quando, em 2013, foi retirado do mercado a difenilamina (DPA). Esta substância ativa tinha grande importância na conservação da pera 'Rocha' em Portugal, estava homologada para o controlo do escaldão superficial, mas também reduzia os acidentes internos, os danos pelo dióxido de carbono e os acastanhamentos epidérmicos devidos a abrasões (Almeida, 2017). Frutos de pera 'Rocha' tratados com DPA e conservados a 0°C numa atmosfera de 2,5 kPa O₂ e de 0,7 kPa CO₂ mostraram um fraco controlo do α-farneseno, mas nos trienos conjugados resultantes da oxidação do α-farneseno já foi eficaz no seu controlo, sendo assim eficiente no controlo do escaldão superficial (Isidoro & Almeida, 2006). Também Silva *et al.* (2008a) em pera 'Rocha' tratadas com DPA e conservadas a -0,5 °C, numa atmosfera de 2,5 kPa O₂ + 0,7 kPa de CO₂ obtiveram um excelente controlo dos acastanhamentos internos e do escaldão superficial.

Após a proibição do uso do DPA, a União Europeia aprovou o uso da etoxiquina. A etoxiquina é um antioxidante bastante efetivo contra o escaldão superficial, contudo é menos eficaz no controlo do acastanhamento interno que o DPA (Kupferman & Gutzwiler, 2003). O controlo do escaldão superficial usando etoxiquina é explicado pela sua ação antioxidante e / ou pela sua inibição da biossíntese de trienos conjugados (Che *et al.*, 1990). Mais tarde o uso da etoxiquina também foi proibido. Assim, sem a utilização de DPA e etoxiquina, as peras "Rocha" podem desenvolver acastanhamentos internos logo três a quatro meses depois do armazenamento em atmosfera controlada, tendo em conta a suscetibilidade dos frutos (Deuchande, 2016).

Assumindo os problemas anteriormente referidos, a pera 'Rocha' tem boa aptidão para transporte a longa distância com bom poder de conservação. Tem também mostrado um tempo de vida de prateleira admissível para a comercialização em grandes espaços de comércio (Alexandre, 2001).

2.2. Acidentes fisiológicos

O armazenamento permite um aumento do tempo de conservação dos frutos, contudo podem surgir um conjunto de acidentes fisiológicos, provocados pela sua exposição prolongada às condições de armazenamento, em frio normal ou atmosfera controlada. Estas desordens nos frutos levam a uma desvalorização do produto, sobretudo quando não é possível distinguir as peras saudáveis das peras com problemas.

O surgimento dos acidentes fisiológicos pode estar relacionada com fatores pré-colheita, bem como das condições pós-colheita.

A abordagem aos acidentes fisiológicos será focada nos acastanhamentos internos e no escaldão superficial, bem como, sua sintomatologia, causas e fatores de pré e pós colheita.

2.2.1. Acastanhamento interno

O acastanhamento interno é um acidente fisiológico que ocorre durante o período de conservação em atmosfera controlada, são estas as condições favoráveis à sua ocorrência. As características deste acidente fisiológico são o amolecimento e acastanhamento da região carpelar, podendo posteriormente estender-se até à polpa circundante (Silva, 2006).

Num modelo proposto por Franck (2007), assume-se que os acidentes fisiológicos são causados por um desequilíbrio entre processos oxidativos e redutores, devido à concentração de gases provenientes da atividade metabólica dentro dos frutos, levando a uma acumulação de espécies reativas de oxigénio. Estas podem induzir a perda de integridade da membrana, que se torna visível macroscopicamente através da oxidação enzimática de compostos fenólicos para polímeros coloridos de castanho.

Autores como Laurrigaudière (2004), distinguem o acastanhamento interno não como produto de um acidente fisiológico mas sim produto de diversas vias metabólicas, em que inicialmente há acastanhamento da zona carpelar (*core browning*) e depois segue-se a formação do coração castanho (*brown heart*). O trabalho desenvolvido por este autor levou a uma correlação do acastanhamento da zona carpelar com a álcool-desidrogenase, enzima fermentativa, e o coração castanho com enzimas antioxidantes, ascorbato peroxidase e catalase.

Sintomas de acastanhamento interno

Os sintomas de acastanhamento interno em peras podem ser manifestados de diferentes formas, tais como, o acastanhamento radial ou assimétrico, manchas castanhas e / ou secas, cavidades e núcleo castanho (Franck *et al.*, 2007). As manchas são frequentemente encontradas na extensão dos cinco carpelos, as cavidades podem exibir diferentes aparências, tais como, pequenas manchas em forma de estrela, lesões secas aleatórias mas

localizadas, cavidades localizadas aleatoriamente, geralmente de maiores dimensões (Frank *et al.*, 2007).

Silva (2006), fez o levantamento de diversas referências a acastanhamentos internos, tais como, desordens internas (*internal breakdown*), desordens da zona carpelar (*core breakdown*), coração castanho (*brown heart*), acastanhamento da zona carpelar (*core browning*), apodrecimento da zona carpelar (*core rot*), zona carpelar farinhenta (*mealy core*) e acastanhamento da polpa (*flesh browning*).



Figura 1 - Fruto com sintomas de acastanhamento interno.

Apesar de todas estas referências a acastanhamentos internos e sua sintomatologia, podem-se distinguir-se dois tipos de acastanhamento: a decomposição interna e o coração castanho. A decomposição interna está relacionada com o processo de senescência, tendo por isso, como fatores de risco frutos demasiado maduros e conservados em atmosfera normal (Larrigaudière, 2004). Este tipo de acastanhamento interno é caracterizado por uma modificação inicial do núcleo e, mais tarde, da polpa. A decomposição pode estender-se ao resto do fruto (Larrigaudière, 2004). Segundo Pintó *et al.* (2001) há evidências que a decomposição interna está relacionada com o metabolismo fermentativo. O coração castanho é caracterizado pelo acastanhamento e desenvolvimento de cavidades dentro da polpa do fruto, o seu aspeto é seco e de textura rija, o tecido seco pode colapsar dando origem a cavidades no interior do fruto, esporadicamente podem aparecer manchas castanhas na pele circunscritas e parcialmente profundas (Larrigaudière *et al.*, 2017). O coração castanho pode manifestar-se de diferentes formas, tais como, um acastanhamento radial, acastanhamento assimétrico e através dos vasos condutores formando cavernas na polpa do fruto (Larrigaudière *et al.* (2017). Alterações no metabolismo antioxidante associadas a uma acumulação de produtos resultantes da peroxidação lipídica, levam a um aumento da actividade da lipoxigenase (LOX), elevando a quantidade de peróxido de hidrogénio (H₂O₂), levam ao aparecimento do coração castanho (Larrigaudière *et al.*, 2001). Segundo Veltman *et al.* (1999) a observação do acastanhamento do coração é possível quando há um decréscimo do ácido ascórbico, provocado pelo aumento do CO₂.

Para além destes dois tipos de acastanhamento, Mendes (2017), no seu trabalho separou as suas amostras em cinco tipos de sintomas de acastanhamentos internos: *core browning* (ou acastanhamento do núcleo), cavidades brancas ou sem necrose, cavidades com necrose,

flesh browning (ou acastanhamento da polpa) e *senescent breakdown* (ou senescência dos tecidos).

Em peras 'Conférence' armazenadas em atmosfera controlada, com teor baixo de O₂ e alto de CO₂, verificaram-se danos na membrana e desordens na zona carpelar (Lammertyn, *et al.*, 2003).

A problemática do acastanhamento interno e os seus sintomas associados prende-se, sobretudo, com o facto de não ser possível a distinção dos frutos lesados dos frutos sãos, pois os sintomas são manifestados maioritariamente no interior das peras. Visto a análise dos sintomas ser um método destrutivo, a sua avaliação global seria impraticável, assim sendo, a fruta não avaliada aporta sempre a possibilidade de serem frutos lesados e levar a uma desvalorização económica do produto.

Metabolismo fermentativo

Durante o período de conservação de pera 'Rocha' os baixos teores de O₂, elevados de CO₂ e temperatura baixa reduzem a atividade metabólica dos frutos permitindo manter os seus atributos de qualidade durante o armazenamento prolongado. Contudo, o tempo de armazenamento aliado aos reduzidos níveis de O₂ podem ocasionar numa situação de hipoxia no interior dos frutos levando a um stresse oxidativo e induzindo a fermentação. O stresse oxidativo e o uso da via fermentativa como via metabólica para a produção de energia, podem levar à ocorrência de acidentes fisiológicos, como o acastanhamento interno, durante o armazenamento (Deuchande *et al.*, 2014).

Em peras 'Conférence' armazenadas numa atmosfera de 1,5% de O₂ e 1,5% CO₂ obteve-se melhores resultados relativamente à percentagem de frutos com acastanhamentos que frutos armazenados a 6% CO₂ e 0,5% O₂, este lote revelou também um decréscimo acentuado dos níveis de dinucleotídeo de adenina nicotinamida fosfato (NADP), associado à baixa atividade metabólica, possivelmente relacionado com a carga energética do fruto expressa pela concentração de ATP, e o rácio entre ATP e ADP (Saquet *et al.*, 2000). Sugere-se que a concentração de ATP possa ser a razão do aparecimento do coração castanho em peras (Saquet *et al.*, 2003). Uma menor carga energética leva a uma redução de energia disponível para a regeneração celular e manutenção, acidificação citoplasmática, ativação de glicólise e produtos finais glicolíticos tóxicos para as células. (Veltman *et al.*, 1999a; Chevrin *et al.*, 1996).

A resistência à difusão dos gases através do fruto é um processo que foi estudado por vários autores. Ho *et al.* (2009) referem que a difusividade parece estar correlacionada com a distribuição aleatória das células e dos espaços intercelulares no tecido. Estes autores apontaram também que a temperatura não afeta as trocas de gases e o transporte de O₂ ocorreu principalmente através dos espaços intercelulares e menos através do líquido intracelular, enquanto o CO₂ foi transportado de igual forma em ambos os locais. Veltman (2002) afirma que as concentrações de O₂ na pera são de fato ligeiramente diminuídas, mas não tão baixas de forma a induzir acastanhamento. Também não encontrou gradiente de O₂ no tecido do córtex da pera, o que não aponta para uma evidente resistência à difusão de O₂, contudo foi evidente uma acumulação de CO₂ nas peras (Veltman, 2002).

A conservação de frutos em atmosfera de alta pressão parcial de CO₂ e baixa de O₂, e a alteração do metabolismo de aeróbio para anaeróbio, leva a uma acumulação de metabolitos de origem fermentativa, como etanol e acetaldeído (Deuchande, 2016). Durante a longa conservação sobre as condições de hipoxia, a via do etanol tem origem a partir do piruvato,

dá-se a descarboxilação do piruvato pela piruvato descarboxilase (PDC) e assim forma-se acetaldeído, este é então reduzido a etanol pela álcool desidrogenase (ADH) (Chervin and Truett, 1999), sendo esta enzima correlacionada com o aparecimento de acastanhamento interno (Larrigaudière *et al.*, 2004). Além disso, as reações fermentativas utilizam NADH regenerando NAD⁺, que é necessário para manter a glicólise e à medida que a fermentação prossegue, existe uma acumulação de acetaldeído que, por sua vez, pode inibir a atividade PDC (Juni 1961).

Os metabolitos fermentativos formados através da fermentação alcoólica são importantes para vários processos no tecido do fruto, particularmente o amadurecimento (Deuchande, 2016)

Segundo Frank *et al.* (2007) os acastanhamentos podem ter na sua origem dois processos: o anabólico, tem por base a respiração insuficiente e portanto energia insuficiente para manutenção e o catabólico, que tem o foco na prevenção dos danos. No entanto, ambas as hipóteses são complementares: o que importa é o equilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigénio (ROS), tais como o radical superóxido (O₂ •-) que pode ser reduzido a peróxido de hidrogénio (H₂O₂) e o radical hidroxilo (OH•), a eficiência do sistema antioxidante e a energia disponível para manutenção, em suma, o equilíbrio entre processos oxidativos e redutores (Frank *et al.*, 2007).

Acastanhamento enzimático

Nas células, após estarem sujeitas a um stresse oxidativo intenso e/ou prolongado no tempo, ocorrem anomalias no metabolismo celular, resultando, por exemplo, na perda da integridade da membrana e consequentemente, reações de coloração (Frank *et al.*, 2007).

Em peras ‘Conférence’ é frequentemente observado o aparecimento do núcleo castanho, a cor castanha presente no núcleo é o resultado da oxidação enzimática de polifenóis para o-quinonas, sendo esta uma reação catalisada pela polifenoloxidase (PPO) (Veltman, *et al.*, 1999b).

A PPO é o nome usado para uma série de enzimas envolvidas na oxidação de vários polifenóis, a atividade PPO, associada aos acastanhamentos, atribuída à tirosinase (Veltman, 2002). Segundo Veltman *et al.*, (1999b) em peras ‘Conférence’, foi observada uma diminuição da atividade da tirosinase que pode ser a consequência da diminuição do acastanhamento dos tecidos (Veltman, *et al.*, 1999b).

O acastanhamento desenvolve-se devido à ação da PPO, nomeadamente quando a tirosinase converte polifenóis em o-quinonas, estas quinonas oxidam e polimerizam quando reagem com diversos componentes celulares, o que leva à pigmentação castanha durante o armazenamento (Veltman, 2002; Yoruk e Marshall, 2003).

Numa célula sã, a tirosinase e os substratos fenólicos estão em locais diferentes na célula, a tirosinase pode ser encontrada em plastídios e na membrana dos cloroplastos, já os polifenóis estão presentes no vacúolo (Veltman, 2002; Yoruk e Marshall, 2003). Tendo em conta que existe uma membrana que envolve tanto os plastídios como os vacúolos, remete que para existir acastanhamento é necessário ocorrer rompimento das membranas intracelulares (Veltman, 2002; Veltman, *et al.*, 1999b; Yoruk e Marshall, 2003).

Para além das polifenóis oxidases (PPO), as peroxidases (POD) são também referenciadas como enzimas responsáveis pela perda de qualidade devido à degradação

fenólica. (Tomás-Barberán & Espín, 2001). Richard-Forget e Gauillard (1997) demonstraram que embora a POD de pera, só por si, não tenha atividade oxidativa, pois depende do oxigénio, na presença de PPO, a POD aumentou a degradação dos compostos fenólicos. Mesmo após a PPO ser inibida, durante a reação oxidativa, a adição de POD levou a um consumo adicional do composto fenólico independentemente do substrato utilizado, a oxidação de PPO gerou também H_2O_2 , cuja quantidade varia com a estrutura fenólica. (Richard-Forget e Gauillard, 1997).

Sistema antioxidante

As espécies reativas de oxigénio, produzidas durante a respiração dos frutos (mitocôndrias) e fotossíntese (cloroplasto), cuja formação aumenta em condições de stresse, devem ser processadas rapidamente para evitar destruição das membranas, contudo a vida útil das espécies de oxigénio ativo no ambiente celular é determinada pelo sistema antioxidante (Noctor & Foyer, 1998; Veltman, 2002). As células sujeitas a um nível de stresse oxidativo elevado, aliado a um deficiente sistema antioxidante, são as duas conjugações para um caso dramático de acastanhamento interno (Frank *et al.*, 2007) O sistema antioxidante compreende inúmeras enzimas e compostos de baixo peso molecular (Noctor & Foyer, 1998).

Um dos mais abundantes antioxidantes em frutas, para além da Glutathione (GSH) e vitamina E, é a vitamina C ou ácido ascórbico (AA) (Veltman, 2002) O ácido ascórbico funciona como antioxidante, por si só, ou em conjunto com enzimas antioxidantes como é o caso da superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), ascorbato peroxidase (APX) e glutathione redutase (GR) (Frank *et al.*, 2007).

O ácido ascórbico é possivelmente o inibidor de acastanhamento enzimático mais comum na natureza em frutos e vegetais, este reduz a oxidação inicial dos produtos, de o-quinonas, para o-difenóis até que sejam quantitativamente oxidados em ácido desidroascórbico (DHA) (Matheis, 1983). Esta proteção contra o acastanhamento é possível até que o ácido ascórbico decresça até um certo valor limite (Frank, *et al.* 2007). Uma outra das importantes funções do ácido ascórbico é a eliminação de radicais livres de oxigénio, como é o caso do H_2O_2 transformando-o em água (Veltman, 2002; Noctor & Foyer 1998; Ahmad et al., 2010). O AA também pode regenerar a vitamina E (α -tocoferol) nas membranas, a vitamina E protege as membranas contra os radicais livres de oxigénio, o ácido ascórbico desempenha também um papel importante no funcionamento da ascorbato peroxidase (APX), esta neutraliza o peróxido presente nos cloroplastos, onde a catalase não está presente (Veltman, 2002). O ácido ascórbico pode assumir a forma reduzida (AsA) ou formas oxidadas como o monodesidroascorbato (MDHA) e desidroascorbato (DHA), podendo ser encontrada em vários compartimentos celulares, como cloroplastos, mitocôndrias e peroxissomas, em concentrações médias, e também em vacúolos e paredes celulares em concentrações mais baixas (Ahmad et al., 2010).

Em condições de atmosfera controlada com O_2 reduzido e CO_2 elevado, estes dois fatores induzem uma redução dos níveis de AA (Veltman, 2002). De acordo com Zerbini et al., (2002a), peras 'Conférence' de colheita normal e tardia armazenadas logo após colheita ou com *delay* em atmosfera controlada com 2% de O_2 e baixo (0,7%) ou alto (5%) de CO_2 foram comparadas e o conteúdo de ácido desidroascórbico (DHAA) não mudou durante o armazenamento em nenhum dos tratamentos, contudo a taxa de perda de AA foi maior nos frutos de colheita tardia e nos armazenados em 5% de CO_2 . O coração castanho também apareceu em diferentes tratamentos quando o AA diminuiu abaixo de um limiar, que era de aproximadamente 2 mg kg^{-1} de peso fresco, correspondendo a 5% do teor de AA na colheita,

assim, a maturação avançada na colheita e armazenamento em elevado teor de CO₂ determina o aparecimento do acastanhamento e diminuição do AA (Zerbini *et al.*, 2002a)

Para além do ácido ascórbico, outros antioxidantes não enzimáticos desempenham um papel importante no metabolismo das plantas, por exemplo: a glutathione (GSH) é um tripéptido que se sabe que intervém em variados mecanismos de biossíntese relacionados com o crescimento, nomeadamente o desenvolvimento e diferenciação das células e a regulação de enzimas envolvidas na senescência, a GSH também protege a planta de agentes patogénicos e participa nos processos de eliminação de compostos químicos estranhos como EROs como o O₂, o H₂O₂ e OH⁻ (Afzal *et al.*, 2014); Os compostos fenólicos são outro antioxidante, estes metabolitos existem em diversos tecidos e órgãos das plantas incluindo os seus frutos; nas células estes compostos encontram-se maioritariamente nos vacúolos (Robards, *et al.*, 1999). Os compostos fenólicos oxidam e funcionam como dadores de eletrões, reduzindo assim as EROS a moléculas menos agressivas para os constituintes das células (Robards, *et al.*, 1999).

Para além dos antioxidantes não enzimáticos, também os antioxidantes enzimáticos desempenham funções relevantes nas plantas, como é o caso da: superóxido dismutase (SOD), é uma enzima que pode ser considerada como a primeira linha de defesa do sistema antioxidante, responsável pela conversão dos aniões de superóxido (O₂⁻) em H₂O₂; a catalase (CAT) tem como papel degradar o H₂O₂ em água e oxigénio; ascorbato peroxidase (APX) é uma enzima que utiliza o ácido ascórbico como dador de eletrões de forma a converter o H₂O₂ em água, oxidando o ascorbato e formando duas moléculas de monodesidroascorbato (MDA); a monodesidroascorbato redutase (MDHAR) é o maior constituinte do ciclo do ascorbato glutathione, e é altamente específica para o substrato monodesidroascorbato, que atua como um aceitador de eletrões, sendo o NAD(P)H o dador de eletrões, regenerando o ácido ascórbico; a desidroascorbato redutase (DHAR), utilizando a glutathione como agente redutor, vai reduzir o desidroascorbato a ascorbato, sendo uma peça importante do sistema antioxidante, mantendo o ácido ascórbico na sua forma reduzida; a glutathione redutase (GR) é uma flavo-proteína oxirredutase que catalisa a redução da glutathione dissulfato (GSSG) em glutathione (GSH), utilizando o NADPH como agente redutor da reação (Gomes, 2015).

Composição mineral dos frutos

A composição mineral de frutos é também um fator que influencia a ocorrência de acastanhamentos em frutos. Segundo Xuan *et al.* (2001, 2003), um dos nutrientes que influencia o sucesso do armazenamento é o boro. Resultados indicam que a fruta tratada com boro não exibiu acastanhamentos após quatro meses, em comparação com as testemunhas que revelaram alta incidência de coração castanho, o boro reduziu a permeabilidade da membrana na colheita e durante o armazenamento, aumentou o teor de boro e vitamina C do tecido do córtex (Xuan *et al.*, 2001). Os frutos tratados com boro respiraram com taxas mais baixas e durante todo o período de armazenamento. No entanto, o estado energético, expresso como ATP: proporção ADP foi maior em frutos tratados com boro. Isso pode ser causado por um menor requisito de energia, resultando em uma maior quantidade líquida de energia disponível para manutenção da integridade e função das células (Xuan *et al.*, 2003). O boro desempenha um papel crucial na parede celular e a integridade da membrana das células (Broadley *et al.*, 2012). Também Streif *et al.* (2001) encontraram correlação entre o teor de boro e o aparecimento de acastanhamentos em frutos passados 6 meses de armazenamento, contudo, o mesmo não aconteceu com outros nutrientes, como o K, Ca, Mg e P.

O cálcio tem o papel importante para a estabilização da parede celular e da membrana, semelhante ao boro (Hawkerford *et al.*, 2012). Alguns autores, como Rease and Drake (2008) que nos seus trabalhos fazem aplicações de cloreto de cálcio (CaCl_2) por forma a aumentar as concentrações de Ca no fruto, verificaram que as aplicações melhoraram a qualidade de vida útil dos frutos, melhoraram a aparência dos frutos e melhoraram no controlo de desordens fisiológicos, como o acastanhamento interno (Rease and Drake, 2008). Também Fallahi *et al.* (2010) fizeram aplicações de Ca via pulverização e em pós-colheita, concluindo que no pós colheita a influência no aumento da concentração de Ca nos frutos é maior. Contudo Xuan *et al.* (2003) tiveram melhores resultados na incidência de acastanhamentos internos quando combinou boro com cálcio em pulverizações.

Relativamente aos restantes macronutrientes, Newhald *et al.* (2014) obtiveram correlações significativas entre a incidência de acastanhamento interno e teores de potássio (K), fósforo (P) e também para a relação K/Ca. O excesso de azoto e aplicações de azoto junto à colheita aumentam o metabolismo do fruto e a sua sensibilidade ao acastanhamento, a importância do magnésio deve-se à sua função estabilizadora das membranas (Larrigaudière *et al.*, 2017).

Alguns micronutrientes podem ter influência no aparecimento de acastanhamentos, como o ferro (Fe), manganês (Mn) e o cobre (Cu) que desempenham um papel crucial nos sistemas redox, o Mn e o Cu estão envolvidos também na desintoxicação de radicais superóxido (Broadley *et al.*, 2012).

2.2.1.1. Fatores de pré-colheita

Os fatores de pré-colheita influenciam a ocorrência de desordens fisiológicas durante o armazenamento dos frutos (Ferguson *et al.*, 1999).

Os fatores de pré-colheita podem ser divididos em três características principais: as edafoclimáticas (temperatura durante o crescimento, precipitação), o pomar (incluindo as características da árvore e do solo, aplicação de agroquímicos, rega e orientação das linhas) e a posição dos frutos na árvore (Frank *et al.*, 2007).

Relativamente às características edafoclimáticas, as baixas temperaturas de verão durante o crescimento do fruto e a humidade relativa alta provocada pela elevada pluviometria são condições que aumentam a sensibilidade dos frutos ao aparecimento do acastanhamento interno (Zerbini *et al.*, 2002).

Segundo Larrigaudière *et al.* (2017) outra das influências que o clima tem sobre o aparecimento de acastanhamento interno é aquando da divisão celular se registem temperaturas anormais, estas condições vão levar a um incremento de células no fruto e posterior redução dos espaços intercelulares. Quando existem menos espaços intercelulares, há maior dificuldade na difusão dos gases, especialmente do CO_2 , o que pode levar ao surgimento de acastanhamentos internos (Larrigaudière *et al.*, 2017).

A nebulosidade também tem efeito no aparecimento de acastanhamentos internos, pois influencia a capacidade das plantas sintetizarem hidratos de carbono e por sua vez a capacidade de manutenção e crescimento dos frutos. Em dias nublados, a diferença térmica entre dia e noite é menor, reduzindo a capacidade fotossintética e por sua vez o balanço dos hidratos de carbono na planta, diminuindo a capacidade de crescimento dos frutos (Larrigaudière *et al.*, 2017).

De acordo com Ferguson *et al.* (1999), a exposição solar e as altas temperaturas podem estar relacionados com desordens fisiológica como o *watercore* em maçãs e lesões pelo frio em abacate.

A influência das características e manejo da parcela na conservação pode ser explicada por diferentes situações, por exemplo: pomares em que as árvores tenham pouca produção, são mais suscetíveis de desenvolver acastanhamento interno, tal como árvores de fraco vigor induzido por períodos de stresse (Larrigaudière *et al.*, 2017). Uma boa fertilização da parcela também é importante, de forma a manter uma boa nutrição e equilíbrio da cultura (Larrigaudière *et al.*, 2017), pois a composição de nutrientes tem influência na sensibilidade dos frutos ao acastanhamento. Regas fortes junto à colheita e tratamentos hormonais podem afetar o desenvolvimento normal do fruto e posteriormente aumentar a sensibilidade dos frutos para o desenvolvimento de acastanhamentos internos (Larrigaudière *et al.*, 2017).

Almeida (2017) sugere a segregação de lotes de acordo com o potencial de conservação, sendo esse potencial relacionado com a fitotecnia do pomar, no histórico do pomar e na textura do solo, pois frutos provenientes de solos de textura ligeira apresentam potencial de conservação inferior aos produzidos em solos francos.

Alguns autores como Verlinden *et al.* (2002) já tiveram em conta a variabilidade de cada cada ano produtivo e de cada pomar, realizando os seus trabalhos em vários pomares e abrangendo cinco anos, por forma a generalizar a validade do conclusões.

A posição do fruto na árvore e a temperatura do fruto são dois dos mais importantes desses fatores; em maçãs, a posição influencia fortemente os teores de minerais nos frutos e consequentemente, a incidência de desordens pós-colheita, como o bitter-pit, este efeito da posição pode refletir-se na polinização e cultivo, ou mais diferenças diretas, como no fluxo de minerais e água nos frutos em desenvolvimento (Ferguson *et al.*, 1999). A posição dos frutos na árvore também mostrou ter efeito no teor de ácido ascórbico, pois verificou-se que a concentração de ácido ascórbico é assimetricamente distribuída dentro da pera, apresentando diferenças de concentração até 4 vezes entre o lado exposto sol e o lado da sombra (Frank *et al.*, 2003).

2.2.1.2. Fatores de pós-colheita

Quando os fatores de pré-colheita não são ótimos, a incidência de acastanhamentos internos pode ser atenuada, otimizando os fatores pós-colheita (Franck *et al.*, 2007).

Os fatores pós-colheita que influenciam o aparecimento de acastanhamentos são em grande parte as condições de armazenamento, como, a duração do período de arrefecimento, as pressões parciais de CO₂ e O₂, a temperatura e a duração do período de conservação, contudo um dos mais influentes fatores é a data de colheita (Lammertyn *et al.*, 2000; Verlinden *et al.*, 2002)

O fator mais óbvio é o nível maturação das frutas na colheita (Ferguson *et al.*, 1999). Também Almeida (2017) recomenda a segregação de estado de maturação à colheita. A data de colheita, bem como a janela de colheita (tempo entre o início e o fim da colheita), parecem ter uma grande influência, pois frutos mais maduros, são frutos com menor capacidade antioxidante (ascorbato, glutathione, superóxido dismutase e catalase), maior potencial para acumulação de radical superóxido (O₂ •-) e peróxido de hidrogénio (H₂O₂) e mais sensíveis ao aparecimento de acastanhamento interno (Lenthéric *et al.*, 1999). Com a importância da data de colheita, é imprescindível ter em conta os índices de maturação que indicam o

momento ótimo de colheita dos frutos, tais como: firmeza, índice refratométrico, índice do amido, acidez medida através do teor de ácido málico no fruto e dias após a plena floração. (Larrigaudière *et al.*, 2017).

Os frutos colhidos tardiamente são muito mais suscetíveis à ocorrência de acastanhamentos internos, assim é recomendável iniciar o arrefecimento imediatamente após a colheita para reduzir a atividade respiratória o mais rápido possível, mas esperar pelo menos três semanas antes de aplicar as condições de gás da atmosfera controlada (Verlinden *et al.*, 2002). A aplicação de sistemas de pré-arrefecimento permite reduzir a taxa respiratória do fruto mas também a acumulação de CO₂ na câmara (Larrigaudière *et al.*, 2017). Este procedimento diminui a incidência de acastanhamentos internos mesmo tratando-se de frutos com maturações avançadas (Frank *et al.*, 2007). Também a pressão parcial de O₂ durante o armazenamento em atmosfera controlada não deve ser muito baixa (Lammertyn *et al.*, 2000; Verlinden *et al.*, 2002). Em geral, frutos de maior calibre e com níveis de maturação mais avançados, em condições de armazenamento com baixo teor de O₂ e teor de CO₂ elevado, a uma temperatura alta e por períodos longos de conservação são condições mais propícias à ocorrência de acastanhamentos internos (Lammertyn *et al.*, 2000; Larrigaudière *et al.*, 2017).

Com o manejo adequado em central, é importante evitar todo tipo de danos mecânicos (golpes e contusões) que, por sua ação sobre o etileno e maturação dos frutos, podem aumentar a sensibilidade do fruto à ocorrência de acastanhamento interno (Larrigaudière *et al.*, 2017). Também uma boa estiva e circulação de ar dentro da câmara são necessários para não gerar bolsas de acumulação de CO₂ e provocar maior incidência de acastanhamentos. (Larrigaudière *et al.*, 2017) Também a taxa de enchimento da câmara pode ter influência na sensibilidade dos frutos à ocorrência de acastanhamento internos (Almeida, 2017)

2.2.2. Escaldão superficial

O escaldão superficial é um acidente fisiológico da pera 'Rocha', onde normalmente os seus sintomas aparecem passados quatro a cinco meses de armazenamento, caracterizam-se por superfícies acastanhadas na pele do fruto, sendo esses sintomas normalmente manifestados já a temperatura ambiente, reduzindo a aparência e valor comercial dos frutos (Isidoro, 2005). É indicado pelos produtores mundiais como um dos principais problemas de armazenamento em frio de pomóideas, que podem levar a grandes perdas económicas (Guerra *et al.*, 2012). Este problema é mais frequente em câmaras de atmosfera normal, já que em atmosfera controlada as peras apresentam melhor comportamento à saída do frio (Alexandre, 2001).

É um acidente fisiológico que está relacionado com a oxidação do α -farneseno, a sua oxidação vai gerar trienos conjugados altamente reativos, provocando o rompimento da membrana das células da pele dos frutos levando a que a PPO atue, conduzindo a um acastanhamento enzimático (Isidoro & Almeida, 2006).

O escaldão superficial era prevenido com tratamentos pós-colheita, estes tratamentos eram assentes no uso de vários produtos químicos críticos para a saúde humana, como a difenilamina (DPA), que foi proibido na Europa (Guerra *et al.*, 2012).

Sintomas de escaldão superficial

O escaldão superficial é caracterizado pelo acastanhamento da epiderme do fruto durante o armazenamento a baixas temperaturas; esta desordem inicia-se por umas manchas castanhas claras na superfície do fruto, à medida que o tempo vai decorrendo, estas manchas tendem a aprofundar podendo formar buracos na pele dos frutos (Bain, 1956). Estas depleções na superfície do fruto estão associados a uma perda de água nas células dos tecidos apresentam sintomas de escaldão superficial (Golding *et al.*, 1997). Inicialmente, as manchas na pele são de cor castanho claro, mas à medida que a desordem progride, a mancha torna-se castanho escuro e desenvolve uma aparência de escaldão (Gross *et al.*, 2016)

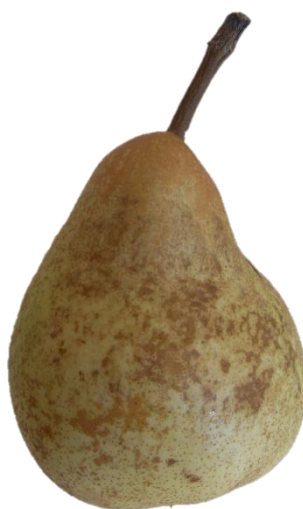


Figura 2 - Fruto com sintomas de escaldão superficial.

O acastanhamento ocorre em células que contêm cloroplastos, as células com desordem aparentam um desaparecimento da membrana citoplasmática e das lamelas dos cloroplastos, contudo, embora confinado às células com cloroplastos, não está correlacionado com alterações nestes organelos (Bain e Mercer, 1963).

Os sintomas de escaldão superficial mostram áreas necróticas nas camadas superficiais das células do tecido cortical hipodérmico, resultando numa coloração castanha da pele da fruta, sem afetar os tecidos internos (Lurie e Watkins, 2012). O acastanhamento das células só afeta a epiderme e as camadas da hipoderme da casca do fruto (Golding, 1999). Quando a lesão é suave só são afetadas as células hipodérmicas externas, quando a lesão é mais severa pode afetar cinco ou seis camadas da hipoderme, neste tipo de ataque severo as células colapsam em uma direção radial, fazendo com que a área afetada afunde. (Bain e Mercer, 1963).

Frutos que aparentemente estão sem sintomas após estarem em armazenamento a baixas temperaturas, se tiverem propensão a desenvolver escaldão superficial, as manchas irão aparecer em poucos dias após a retirada do frio (Bain, 1956).

Hipótese do α -farneseno e os trienos conjugados

Data de 1919, que Brooks *et al.* (1919) referem que o escaldão superficial pode ser induzido por substâncias voláteis que se acumulavam na pele dos frutos e no ar em seu redor, acreditando que estes voláteis pudessem ser transportados por correntes de ar ou absorvidos por gorduras e óleos. Mais tarde Murray *et al.* (1964) indicam a presença pequenas quantidades de um hidrocarboneto na cutícula de maçãs 'Granny Smith', que vista uma possível ligação ao escaldão superficial. Foi então isolado o hidrocarboneto, um sesquiterpeno puro do revestimento natural das maçãs 'Granny Smith' e por fim identificado como um isômero alfa, o α -farneseno (Murray, 1969).

Atualmente existe mais conhecimento relativamente ao α -farneseno e à sua ação no escaldão superficial. Inicialmente, o α -farneseno era indicado como sendo o agente causal direto do escaldão superficial, no entanto, colheitas tardias de 'Lady Williams' tiveram elevados níveis de α -farneseno à colheita, mas não desenvolveram sintomas de escaldão superficial, sugerindo que não havia correlação direta entre α -farneseno e os sintomas de escaldão (Isidoro, 2005).

Anet (1969) isolou a molécula de α -farneseno, e caracterizou os seus produtos de auto-oxidação *in vitro*, compostos tinham absorvância em espectro UV, com três ligações duplas, sendo denominados por trienos conjugados. Rowan *et al.* (2001) sintetizaram produtos de oxidação de α -farneseno, os trienos conjugados (hidroperóxidos), e quando estes foram aplicados na superfície das maçãs de 'Granny Smith' produziram os sintomas indistinguíveis dos naturais de escaldão superficial, comprovando que o escaldão superficial é, então, resultado da produção de α -farneseno e dos produtos da sua oxidação, os trienos conjugados (Paliyah *et al.*, 2008). Mais tarde, para comprovar a relação entre α -farneseno e os seus produtos de oxidação, Guerra *et al.* (2012) nos seus trabalhos avançaram que foram obtidas regressões confiáveis para entre o α -farneseno e os trienos conjugados de $R \approx 0,6$.

A hipótese que prevalece é a de que, quando os frutos são colocados na câmara frigorífica, há um aumento da síntese de α -farneseno e após 6 a 8 semanas dá-se a oxidação deste composto acumulado (Whitaker, 2004). *In vivo*, Whitaker *et al.* (1997), suportaram a hipótese de que a suscetibilidade ao escaldão superficial é uma função da produção de α -farneseno e sua oxidação em trienos conjugados, para isso usou várias cultivares de maçãs e de diferentes níveis de suscetibilidade a escaldão: 'Granny Smith' (alta), 'Red Delicious' (moderada) e 'Gala'. Foram analisadas as amostras de casca dos frutos quanto ao teor de α -farneseno e trienos conjugados, que se correlacionou bem com a suscetibilidade e ocorrência da escaldão superficial, também os níveis de sesquiterpenos foram mais de 20 vezes superiores em 'Granny Smith' do que em 'Gala' (Whitaker *et al.*, 1997). Outra evidência de que os compostos da oxidação do α -farneseno são a origem do escaldão superficial é quando há aplicação de 1-MCP, que atua na inibição da ação do etileno, há redução da síntese de α -farneseno e por sua vez inibição da ocorrência de escaldão superficial (Whitaker, 2004).

A acumulação de α -farneseno e trienos conjugados na casca de frutas correlacionou-se com o aumento da produção de etileno, que foi maior a temperatura mais elevadas. (Watkins *et al.*, 1995). Esta relação pode ser comprovada pela aplicação de inibidores de etileno, como 1-MCP, que reduziram a produção de etileno e assim a acumulação dos seus compostos de oxidação, prevenindo o escaldão superficial (Whitaker, 2004; Isidoro, 2005; Zanella *et al.*, 2005).

Hipótese de um stresse oxidativo

Alguns autores propõem que o escaldão superficial é resultado de um stresse oxidativo e que a auto-oxidação do α -farneseno é um resultado secundário da produção de radicais livres (Rao *et al.*, 1998; Rupasinghe *et al.*, 2000). Knee e Hatfield (1981), também sugerem que a oxidação do α -farneseno é uma consequência da oxidação iniciada por radicais livres e que pode mesmo ocorrer na sua ausência, pois, observaram desenvolvimento de escaldão superficial sem que existisse acumulação de α -farneseno ou de trienos conjugados em frutos colhidos tardiamente.

Rao *et al.* (1998) em frutos dos híbridos provenientes do cruzamento entre 'White Angel' resistente ao escaldão e 'Rome Beauty' suscetível ao escaldão, observou que a acumulação de α -farneseno e trienos conjugados foi pouco correlacionada com o aparecimento de escaldão, acreditando que a suscetibilidade ao escaldão possa estar relacionada com a capacidade dos tecidos sintetizarem as espécies reativas de oxigénio, como o peróxido de hidrogénio. Também Rupasinghe *et al.* (2000) não encontrou correlação entre a quantidade de α -farneseno e trienos conjugados e suscetibilidade ou resistência a escaldão superficial em 11 cultivares de maçã.

Whitaker (2004) sugere que o escaldão superficial resulta de um stresse oxidativo geral dos frutos, ativado pelo rompimento da cadeia transportadora de eletrões mitocondrial a baixas temperaturas e consequente produção de superóxido.

Acastanhamento enzimático

No escaldão superficial, tal como, nos acastanhamentos internos os acastanhamentos da pele dos frutos devem-se à atividade enzimática, devido à perda da integridade celular que permite o contacto da enzima PPO presente nos plastídios com os compostos fenólicos existentes nos vacúolos, provocando a formação de o-quinonas de coloração castanha (Silva, 2006). Por forma a comprovar a presença de PPO, estudou-se a presença de mRNA da PPO acumulado nos tecidos danificados, verificou-se a acumulação em tecidos da pele dos frutos que apresentavam os sintomas de escaldão superficial, foi até adiantada que a indução de mRNA de PPO fornece a primeira evidência para o controlo transcricional da expressão de PPO após dano ou a manifestação de uma desordem fisiológica (Boss *et al.*, 1995). Também em maçãs tratadas com DPA as atividades de polifenoloxidase (PPO), peroxidase e lipoxigenase foram menores do que em frutas não tratadas, já em frutos com escaldão a PPO apresentou níveis mais elevados, lipoxigenase e peroxidase mais baixos, do que os tecidos saudáveis (Lurie *et al.*, 1989).

É evidente que o escaldão superficial tem a sintomatologia de um acastanhamento na pele dos frutos, sendo estes resultado de destruição de células da hipoderme (Paliyah *et al.*, 2008). Contudo, em frutos com sintomas ligeiros de escaldão superficial nos tecidos da hipoderme, as membranas dos cloroplastos apresentavam-se deterioradas, dispersando fragmentos de lamela, vesículas, grãos de amido bem como outras estruturas para o interior do citoplasma, mas, nos tecidos onde existia escaldão superficial os cloroplastos apresentavam-se ligeiramente inchados, mas intactos (Bain e Mercer, 1963). Contrariamente ao que se pensava, também Golding *et al.* (1995) comprovaram que as membranas do cloroplasto em células de tecidos com escaldão pareciam estar intactas, essas observações colocaram em causa a hipótese de que a ruptura da membrana permitia que a enzima PPO, que está localizada no cloroplasto, reaja com compostos fenólicos que se escapam do

vacúolo. Também, Du e Bramlage (1995) comprovaram que a atividade de PPO era maior em cultivares suscetíveis ao escaldão como 'Cortland' e 'Delicious' do que 'Empire', mas a atividade não estava relacionada com os sintomas de escaldão superficial em maçãs 'Cortland'. Foi, então, proposto que a peroxidase (POD) possa desempenhar um papel mais importante no desenvolvimento de escaldões (Golding, 1999).

Contudo, Richard-Forget e Gauillard (1997), demonstraram que a POD de pera não tinha atividade oxidativa (dependente do oxigênio), mas, na presença de PPO, a POD aumentou a degradação de compostos fenólicos, além disso, quando a PPO foi inibida por NaCl, a adição de POD levou a um consumo adicional de compostos fenólicos, foram então propostas duas vias para explicar este consumo adicional: os resultados demonstraram que, independentemente do substrato utilizado, a oxidação de PPO gerou H_2O_2 , cuja quantidade varia com a estrutura fenólica; o H_2O_2 é posteriormente utilizado pela POD como substrato. Estes dois mecanismos associados à PPO e POD de pera são consistentes com um envolvimento efetivo do POD de pera no acastanhamento enzimático. (Richard-Forget e Gauillard, 1997).

Atualmente, apesar do envolvimento da POD, o desenvolvimento de escaldões é devido à oxidação fenólica via PPO, a perda de integridade da membrana permite a mistura da PPO com substratos fenólicos dando origem ao acastanhamento (Lurie e Watkins, 2012). Em frutos de colheita precoce, com sintomas severos de escaldão superficial, para além da elevada na atividade da PPO durante o armazenamento, também houve uma baixa atividade de antioxidantes (SOD), sugere uma possível correlação entre escaldão com atividade de PPO e nível antioxidante dos frutos (Abbasi *et al.*, 2008).

Capacidade antioxidante

Em diversos estudos foi demonstrada relação entre o escaldão superficial e a produção de α -farneseno, mas a suscetibilidade não é necessariamente uma função da quantidade produzida, um fator crítico poderá ser a atividade antioxidante, conforme indicado pela eficácia de DPA e outros antioxidantes exógenos (Huelin e Coggiola, 1970a; Lurie e Watkins, 2012).

Anet (1974) examinou 16 variedades de maçãs quanto ao seu teor de antioxidantes na cutícula, isolou onze antioxidantes, sendo α , γ e δ -tocoferol os únicos identificados, o α -tocoferol e quatro dos antioxidantes não identificados foram isolados em todas as maçãs, enquanto a presença dos outros dependia não apenas da cultivar, mas também da maturação e da origem da amostra. O escaldão superficial não ocorreu durante o armazenamento quando o conteúdo antioxidante estava adequado para prevenir ou limitar suficientemente a auto-oxidação de α -farneseno, sendo a quantidade de α -farneseno produzida pela maçã durante o armazenamento o fator mais importante (Anet, 1974).

Em maçãs 'Cortland' colhidas no exterior e interior das árvores ao longo de um período de 25 dias, e posteriormente armazenadas durante 0 a 5,5 meses no ar a 0 °C, a atividade antioxidante aumentou com o avanço da maturação em frutas externas e interiores, e a atividade antioxidante na colheita foi negativamente correlacionada com o desenvolvimento de escaldão, com valores de $r = -0,83$ (Meir e Bramlage, 1988). Também Rudell e Mattheis (2009) estudaram o efeito da luz em maçã, mostrando que o lado mais exposto à luz artificial eliminou os sintomas de escaldão, estes foram aumentando onde a luz foi limitada; igualmente aumentaram os níveis de α -tocoferol com a duração do tratamento de luz no lado não exposto, mas diminuíram à medida que se agravaram os sintomas de escaldão, desta forma, estes valores mostram uma série de metabolitos antioxidantes originados pela exposição à luz que

podem afetar a incidência e gravidade dos sintomas de escaldão superficial (Rudell e Mattheis, 2009).

Durante o armazenamento de maçãs, o α -farneseno encontrava-se sobretudo na cutícula e foi mostrado movimento deste, envolvendo-se em óleos presentes na cutícula, levando a uma acumulação nessas zonas (Huelin, 1968). Barden e Bramlage (1994) colheram maçãs 'Cortland' e à colheita e após intervalos de armazenamento a 0 °C, avaliaram concentrações de α -farneseno e trienos conjugados, estimando a atividade dos antioxidantes solúveis em lípidos e solúveis em água e concentrações de a-tocoferol, carotenos, ácido ascórbico, glutatona, antocianinas e flavonóis na casca dos frutos. Durante o armazenamento, os antioxidantes solúveis em água e as antocianinas diminuíram, mas os antioxidantes lipossolúveis aumentaram, em geral, as concentrações de antioxidantes na colheita foram inversamente proporcionais às concentrações de trienos conjugados e aos sintomas de escaldão, no entanto, nenhum antioxidante individual foi associado de forma consistente com acumulação de trienos conjugados ou desenvolvimento de escaldão. Também Shaham *et al.* (2003) avaliou a atividade antioxidante lipossolúvel em frutos tratados com 1-MCP, que se manteve sempre elevada, quando comparada com frutos não tratados, que mostraram maior suscetibilidade para escaldão superficial.

Relativamente a antioxidantes enzimáticos também diversos estudos foram feitos. Du e Bramlage (1995) analisaram maçãs 'Empire' resistentes ao escaldão e 'Cortland' e 'Delicious' suscetíveis ao escaldão e concluíram que as 'Empire' possuíam atividade de CAT e POX superiores às outras cultivares, a atividade da SOD foi idêntica para ambas, contudo a atividade destas enzimas não está associada à área da pele afetada por escaldão. Du e Bramlage (1994) analisaram a atividade da SOD, incluindo das suas três metaloenzimas diferentes, CuZn-SOD, Fe-SOD e Mn-SOD em maçãs e em nenhuma se correlacionou com a suscetibilidade ao escaldão superficial. Já Abbasi *et al.* (2008) em frutos de maturação precoce com alta incidência de escaldão, durante o armazenamento, verificaram que a atividade da PPO foi elevada e a atividade da SOD baixa, sugerindo uma correlação.

Outros antioxidantes enzimáticos como a CAT e a POX foram avaliados de acordo com a sua atividade e registou-se um aumento associado a menor concentração de H_2O_2 e menor suscetibilidade a escaldão superficial, em híbridos 'White Angel' x 'Rome Beauty' (Rao *et al.*, 1998). Com o mesmo híbrido, Fernandez-Trujillo *et al.* (2003) mostraram haver alguma relação entre a POX e a suscetibilidade a escaldão, no entanto, a maior incidência de escaldão e menor atividade de POX foram encontradas em frutos de 'Delicious' de colheita precoce do que os colhidos tardiamente; além disso, a 'Idared' (resistente ao escaldão) apresentou uma atividade POX muito maior em comparação com a 'Law Rome' (susceptível ao escaldão). A POX e APX foram encontrados em maior nível em maçãs tratadas termicamente, que atrasaram o desenvolvimento de escaldão superficial, não estando presentes maçãs não tratadas (Shaham *et al.*, 2003).

Os compostos fenólicos também têm importância na capacidade antioxidante dos frutos, contribuindo para a resistência contra desenvolvimento de escaldões, devido à oxidação fenólica via PPO, contudo esta contribui em grande parte para o desenvolvimento de sintomas, pois a perda de integridade da membrana permite a mistura da PPO com substratos fenólicos e origina o acastanhamento (Lurie e Watkins, 2012).

Um polifenol comum na natureza, são os flavonóides, estes têm propriedades biológicas, ou seja, a sua atividade antioxidante, como doadores de hidrogénio e eliminação de radicais livres (Rice-Evans *et al.*, 1996). Ju *et al.* (1996) durante três anos fizeram ensaios em maçãs 'Delicious' e 'Ralls' e mostraram que os flavonóides não foram correlacionados com o

desenvolvimento de escaldão durante o armazenamento, contudo, os fenóis simples foram positivamente correlacionados e as antocianinas foram negativamente correlacionadas.

Em maçãs 'Granny Smith' durante o aumento do escaldão superficial há uma diminuição progressiva de todos os tipos de polifenóis oligoméricos, com desaparecimento completo nas manchas castanhas na pele onde o dano atinge máxima intensidade (Peretti *et al.*, 1996). Segundo Peretti *et al.* (1994) houve um decréscimo dos polifenóis (epicatequina, quercetina glicósidos, procianidinas e polifenóis desconhecidos) em frutos da testemunha, que começaram a apresentar escaldão após cerca de 50 dias de armazenamento, contudo não foi encontrada evidência de envolvimento de flavonoides com o escaldão.

Burda *et al.*, (1990) determinaram os compostos fenólicos de três cultivares de maçã ('Golden Delicious', 'Empire' e 'Rhode Island Greening') durante a maturação e armazenamento, foram encontradas a epicatequina e a procianidina B₂, em vez do habitualmente presente em maçãs, o ácido clorogénico, a concentração dos fenóis na polpa das maçãs diminuiu rapidamente durante os primeiros estágios de desenvolvimento e permaneceu relativamente constante durante a maturação e armazenamento. Já Gutierrez (2014) analisou os fenóis totais e especificamente o ácido clorogénico em 'Granny Smith' e 'Pink Lady' em duas classes de maturação diferente que mostraram teores de α -farneseno e trienos conjugados diferentes e também diferenças na suscetibilidade ao escaldão. À colheita, nas 'Granny Smith' os fenóis totais não diferiram em relação à maturação, mas mostraram um ligeiro aumento até aos 2 meses de armazenamento e depois decaíram, no tempo de prateleira o conteúdo de fenóis totais aumentou, já o ácido clorogénico teve teores elevados nesta cultivar, suportando o aumento da incidência de escaldão (Gutierrez, 2014).

Diversos antioxidantes e seus processos foram estudados, mas nenhum deles provou consistentemente haver uma relação com a suscetibilidade ao escaldão (Lurie e Watkins, 2012). A influência dos antioxidantes endógenos no escaldão superficial é algo muito complexo, estando a atividade antioxidante muito dependente de fatores genéticos, ambientais, maturação e condições de pré-colheita, o que leva a que muitas vezes não se consiga uma relação entre os antioxidantes e o desenvolvimento do escaldão superficial. (Isidoro, 2005).

2.2.2.1. Fatores de pré-colheita

A suscetibilidade dos frutos ao escaldão superficial pode estar relacionado com vários fatores de pré-colheita, como: a genética do fruto, as condições climáticas, características intrínsecas do pomar (nutrição e tipo de solo) e características do fruto (calibre e posição na árvore).

Um dos fatores de pré-colheita é a genética, ou seja, a sua apetência intrínseca a desenvolver escaldão superficial. Relativamente a maçãs existem cultivares mais suscetíveis como 'Granny Smith', 'Cortland', 'Lau Rome', 'Empire', 'Delicious' e 'Pink Lady', também cultivares de baixo risco ou resistentes como 'Idared', 'McIntosh', 'Gala', 'Braeburn', 'Fuji', 'Golden Delicious' e 'Spartan' (Watkins *et al.*, 2000; Kupferman, 2001; Tsantili, *et al.*, 2007; Trivedi, 2010; Lurie e Watkins, 2012; Gutierrez, 2014). Também variedades com maior cobertura de cor vermelha na pele são menos suscetíveis a escaldão que listadas ou bicolores, pois o 'verde' dos frutos é mais sensível do que o vermelho (Kupferman, 2001). Esta relação é provavelmente indireta, pois a zona com mais cor é uma zona mais exposta ao sol e é provavelmente essa a redução à suscetibilidade de escaldão, em vez de pigmentos vermelhos (Bramlage, 1988). A posição do fruto na árvore é conhecida como fator que influencia o desenvolvimento de escaldão, pois, frutos do centro da árvore são mais

suscetíveis (Kupferman, 2001). Nesta mesma óptica, o vigor excessivo da árvore e a poda inadequada (aumento de sombra) provavelmente aumentam a suscetibilidade ao escaldão, enquanto a poda de verão provavelmente diminui (Bramlage, 1988).

A suscetibilidade ao escaldão superficial varia de ano para ano no mesmo pomar, isto é consequência da extrema influência das condições climáticas. Frutos cultivados em climas mais quentes e secos são mais suscetíveis, do que, em climas mais frio e húmido (Bramlage, 1988; Kupferman, 2001). Temperaturas baixas antes do período da colheita também reduziram a ocorrência de escaldão. Nomeadamente, frutos expostos a temperaturas <10° C antes da colheita diminuíram a suscetibilidade ao escaldão superficial (Thomai *et al.*, 1998; Diamantidis *et al.*, 2002).

A nutrição das plantas também influencia o risco de escaldão, frutos com teor de azoto ou potássio elevado, bem como, teor de cálcio baixo, são frutos mais suscetíveis (Kupferman, 2001). Frutos provenientes de pomares com solos mais secos, também serão mais fustigados (Kupferman, 2001). Também frutos provenientes de pomares que sofreram regas severas mostraram desenvolver mais sintomas que em regas leves (Brooks *et al.*, 1919).

O calibre tem também uma relação com o escaldão, frutos tamanho grande tendem a desenvolver mais escaldão que os mais pequenos (Kupferman, 2001). Os frutos maiores também atingem temperaturas mais elevadas no interior mesmo em condições climáticas amenas (Ferguson *et al.*, 1998) Mas frutos muito pequenos, ou seja, de colheitas precoces também facilmente apresentam sintomas de escaldão (Kupferman, 2001).

2.2.2.2. Fatores de pós-colheita

Os fatores pós-colheita que influenciam o aparecimento de escaldão superficial são a maturação dos frutos à colheita, as condições de armazenamento e a aplicação de tratamentos para controlo do escaldão.

O principal fator associado ao escaldão superficial é a maturação dos frutos à colheita. Frutos mais maduros apresentam menos sintomas em comparação com frutos de colheitas mais precoces (Bramlage, 1988; Avelar, 2001; Erkan e Pekmezci, 2004; Calvo e Candan, 2010). Também Whitaker *et al.* (1997) encontraram maior quantidade de α -farneseno e de trienos conjugados em frutos de colheitas mais precoces, apresentando mais sintomas que os de colheitas tardias. Normalmente os frutos de colheitas precoces são mais suscetíveis, contudo quando o fruto se encontra num estado elevado de maturação a suscetibilidade aumenta (Paliyah *et al.*, 2008; Abbasi *et al.*, 2008). A capacidade antioxidante também varia com o estado de maturação, frutos colhidos mais tarde apresentaram menos fenóis simples, mas aumentaram o nível de antocianinas e diminuiu a incidência de escaldão; nestes frutos colhidos mais tarde, durante o armazenamento não houve variações nos compostos fenólicos, contudo na colheita precoce decresceram passado 3 meses, já em tempo de prateleira o acentuado decréscimo destes compostos foi geral (Ju *et al.*, 1996).

Relativamente às condições de armazenamento, em pera 'Rocha', um dos grandes avanços foi a atmosfera controlada diminuindo risco de escaldão superficial, contudo podem surgir as cavernas carpelares (Alexandre, 2001). Estes resultados devem-se às elevadas concentrações de dióxido de carbono e as baixas concentrações de oxigénio, sendo estas eficazes no controlo de escaldão superficial (Bramlage, 1988; Kupferman, 2001; Zanella, 2003; Lurie e Watkins, 2012). Para além das altas concentrações de CO₂, as baixas concentrações de O₂ reduziram ou inibiram a oxidação do α -farneseno em trienos conjugados,

valores de 1 a 1,5% de oxigénio mostraram-se bastante efetivos (Bramlage, 1988; Kupferman, 2001; Zanella, 2003; Lurie e Watkins, 2012). Um fator importante no controlo de escaldão através da atmosfera controlada é o rápido estabelecimento das condições de gases, pois uma indução de atmosfera controlada atrasada ou lenta pode aumentar consideravelmente o risco de desenvolvimento de escaldão (Bramlage, 1988). Esta rápida redução é importante sobretudo quando não se pode baixar muito as concentrações de O₂, pois os teores baixos de oxigénio, embora reduzindo o escaldão, também provocaram fermentação (Lurie e Watkins, 2012). Usando estas variações na concentração dos gases, existem diversas tecnologias efetivas contra o escaldão superficial, como: usar níveis muito baixos de O₂ (ULO; *ultra low oxygen*), próximos de 0,4 kPa de O₂, stresse inicial por baixo oxigénio (ILOS; *initial low oxygen stress*), podendo ser de 0,05 kPa de O₂ durante 1 dia ou atmosfera controlada dinâmica (DCA; *dynamic controlled atmosphere*), que leva os valores de O₂ ao limite suportável pelo fruto (Kupferman, 2001; Zanella, 2003; Lurie e Watkins, 2012; Thewes *et al.*, 2015).

O etileno está claramente relacionado com a biossíntese do α -farneseno e posteriormente com o escaldão superficial (Golding *et al.*, 2001; Whitaker *et al.*, 2004; Tsantili *et al.*, 2007). Assim a diminuição ou remoção do etileno durante o armazenamento pode também controlar o escaldão superficial (Bramlage, 1988), tendo a ventilação um papel importante na redução do escaldão superficial, removendo não só o etileno, como outros voláteis críticos, incluindo o α -farneseno (Brooks *et al.*, 1919; Anet, 1972; Kupferman, 2001; Lurie e Watkins, 2012), outra forma de fazer esta remoção é utilizando um armazenamento hipobárico, é um sistema de armazenamento associado a ventilação da área de armazenamento com ar a uma pressão inferior à atmosférica (Wang e Dilley, 2000). Outra forma de controlar o etileno é usando inibidores como é o caso do 1-MCP, em que diversos trabalhos comprovam a sua eficiência no controlo do escaldão superficial (Watkins *et al.*, 2000; Isidoro, 2005; Tsantili *et al.*, 2007; Trivedi *et al.*, 2010; Lurie e Watkins, 2012).

Outros métodos físicos, como o tratamento com calor, condições anaeróbicas e UV, parecem exercer seu efeito ao induzir um stresse no tecido da maçã, se o dano não ocorrer como resultado do stresse, o metabolismo retoma gradualmente ao normal e o desenvolvimento do escaldão ocorre, mas mais tarde (Lurie e Watkins, 2012). Relativamente ao tratamento térmico, Jemric *et al.* (2006) obtiveram bons resultados com a imersão dos frutos em água a 48°C. Kupferman (2001) obteve bons resultados com imersão em água a 50°C durante 60 segundos.

O agente mais utilizado na prevenção do escaldão era a difenilamina (DPA), era aplicado em imersão pós-colheita, no entanto, o seu uso foi proibido devido à toxicidade (Lurie e Watkins, 2012). Outro antioxidante químico que apresentava eficácia sobre o escaldão era a etoxiquina (Bramlage, 1988), mas foi também proibido o seu uso. Atualmente, para além do 1-MCP, outros produtos com possível eficácia sobre o escaldão são o etanol, tendo um possível efeito antioxidante diminuindo a produção de farneseno, o stresse pelo frio e menor oxidação do α -farneseno (Kupferman, 2001; Lurie e Watkins, 2012). Os revestimentos apresentaram também ser uma ferramenta no controlo do escaldão (Brooks, 1919; Lurie e Watkins, 2012).

Em pera 'Rocha' um fator que pode aumentar as lesões na pele dos frutos, é o manuseamento da pera, depois de sair do frio, pode originar marcas na epiderme, especialmente nas colheitas mais tardias e quando as peras permanecem mais meses nas câmaras, também uma calibragem agressiva pode contribuir para acentuar os estragos provocados pelo escaldão superficial (Alexandre, 2001).

2.3. A maturação e a determinação da data de colheita

O estado de maturação da fruta à colheita é crucial, pois determina a qualidade final e o seu potencial de armazenamento. A qualidade dos frutos, em geral, é definida por vários atributos sendo dependente do consumidor, mas compreende o aspeto (cor e firmeza), a aceitabilidade ao consumo (o teor de açúcar, aroma e sensação na boca), bem como as características ocultas (nutrientes e segurança) (Shewfelt *et al.*, 1993; Gutierrez, 2014). O desafio prende-se sobretudo com definir o período de colheita em que se garanta estes parâmetros de qualidade, bem como, o estado de maturação ideal à colheita para garantir uma boa vida útil e a qualidade dos frutos após o armazenamento (Gutierrez, 2014).

A data de colheita influencia também a conservação (Lammertyn, 2000). Frutos de colheitas precoces estão mais sujeitos a perdas mecânicas e à desidratação, dão origem a menos produção, frutos de qualidade e sabor inferior do que quando maduros, também são mais suscetíveis a desenvolver escaldão superficial (Tvergyak, 1985; Bramlage, 1988; Kader, 1999; Avelar, 2001; Erkan e Pekmezci, 2004; Calvo e Candan, 2010). Os frutos demasiado maduros tornam-se moles, farinhentos e insípidos logo após a colheita, sendo também mais suscetíveis a desenvolver acastanhamentos internos (Tvergyak, 1985; Kader, 1999; Verlinden *et al.*, 2002). A data de colheita influencia também a textura do fruto após a conservação (Zerbini, 1997).

A maturação da fruta é caracterizada por alterações fisiológicas e químicas, sendo as principais mudanças durante o processo de amadurecimento, a degradação da pectina que levam ao amolecimento da fruta, mudanças na cor da fruta, muitas vezes com o desaparecimento do pigmento, como a clorofila e o surgimento de pigmentos secundários, alterações nos compostos responsáveis pelo sabor ou odor, transformação de hidratos de carbono de reserva, tais como amido, para açúcares simples e, finalmente, mudanças na quantidade de troca gasosa proveniente da respiração e produção de etileno (Millerd *et al.*, 1952; Kader, 2002). A taxa de respiração e os padrões de produção de etileno permitem classificar os frutos de climatéricos ou não climatéricos, sendo a pera climatérico, caracterizada por mostrar um grande aumento nas taxas de produção de CO₂ e C₂H₄, coincidentes com o amadurecimento, enquanto, os frutos não climatéricos não apresentam alterações nas taxas de produção de CO₂ e C₂H₄, sendo geralmente baixas durante o amadurecimento (Kader, 1999; Kader, 2002; Reid, 2002). Os frutos climatéricos são caracterizados pela taxa de respiração e produção de etileno cair lentamente, após serem colhidos, para um ponto conhecido como o mínimo pré-climatérico, neste ponto, a fruta ainda está verde, com o início do amadurecimento do fruto, a taxa de respiração aumenta desde o mínimo pré-climatérico até ao máximo climatérico, este ponto máximo, coincide muitas vezes com a maturação comestível da fruta, que perdura durante algumas horas ou dias, após o climatérico a taxa respiratória cai de forma constante à medida que a fruta passa para a senescência (Millerd *et al.*, 1952). Os frutos no pré-climatérico estão menos stressados e subsequentemente têm maior potencial de conservação do que os frutos no pós-climatéricos (Kader, 1995).

Segundo Alexandre (2001) para a pera 'Rocha' ter qualidade e com bom poder de conservação e comercialização, ter-se-á obrigatoriamente de proceder a uma colheita criteriosa, pois o potencial de conservação é determinado, em grande parte, pelo estado de maturação à colheita, levando à extrema importância dos testes de maturação efetuados aos frutos antes da colheita permitem a determinação do momento ótimo de colheita e um importante conhecimento das características desses frutos, essencial para decidir acerca da maneira mais correta de os conservar ou do destino a dar-lhes.

2.3.1. Índices de maturação

Os índices de maturação são correlações encontradas com as diversas alterações que os frutos sofrem durante o amadurecimento, tais como: mudanças na cor da pele, dureza, degradação de amido, teor de açúcares solúveis, acidez e compostos aromáticos, que em geral define a qualidade final da fruta (Tvergyak, 1985; Kader, 1999; Dobrzanski *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2009). Ou mesmo as próprias alterações fisiológicas que ocorrem nos frutos podem também ser utilizadas, tais como: a taxa de respiração e produção de etileno (Beaudry *et al.*, 1993; Kader, 1999). Podem também ter uma base climática, como os dias após a plena floração ou os graus-dia (Tvergyak, 1985; Reid, 2002)

Em pera 'Rocha' os índices mais comuns são: o número de dias após a plena floração, a cor da epiderme, o calibre do fruto, a cor da semente, a firmeza da polpa, o índice refratométrico, a acidez total e a taxa de regressão do amido (Alexandre, 2001; Santos, 2009). Também pode ser utilizado uma conjugação de vários índices como é o caso do índice de Streif (Alexandre, 2001).

Número de dias após plena floração

O número de dias após a plena floração é um índice vulgarmente utilizado em peras e maçãs (Reid, 2002).

É um índice que consiste na contagem do número de dias desde a plena floração (F2 de Fleckinger), até à colheita, correspondendo para a pera 'Rocha' entre 133 a 138 dias, tendo em conta que estes valores são uma média de vários anos para a Região do Oeste (Alexandre, 2001). Referenciado pela ANP (Associação Nacional de Pera 'Rocha'), o valor de dias entre a plena floração e a colheita pode ser de 135 a 140 dias.

Este índice deve ser usado como uma referência geral para indicar quando os frutos poderão amadurecer, podendo haver variações de 5 a 20 dias entre a data média da colheita e a data de colheita ideal (Dobrzanski *et al.*, 2006). Uma das principais dificuldades da utilização deste índice ocorre na inconsistência entre os anos (Tvergyak, 1985).

Este método de avaliar a maturação não é biologicamente rigoroso, servindo apenas com diretriz, até mesmo para o uso de outros testes mais fiáveis que permitam definir com mais rigor o grau de maturação (Alexandre, 2001; Dobrzanski *et al.*, 2006)

Cor da epiderme

A mudança da cor que acompanha a maturação nos frutos é amplamente utilizada como índice de maturação (Reid, 2002; Ahmad e Siddiqui, 2015). Embora a sua medição objetiva requeira equipamentos caros, o olho humano é extremamente sensível às diferenças entre cores e as técnicas de comparação de cores são usadas para avaliar a maturação dos frutos (Reid, 2002).

Segundo Tvergyak (1985) é um índice bastante subjetivo, contudo é muito importante, este autor refere também que o índice varia com a variedade, pois variedades verdes (caso da 'Rocha') pode mudar para verde-claro e verde amarelo, mas algumas das variedades chinesas verdes permanecem verdes, e outras asiáticas mudam de verde para castanho para laranja ou dourado. A cor da epiderme é também um índice utilizado em prunóideas, os frutos

passam de verde para vermelho ou amarelo, contudo a interação do sol faz aumentar as tonalidades de vermelho, salientando-se que as mudanças na cor do fundo ou na cor da polpa são índices de maturidade mais confiáveis (Crisosto, 1994).

Segundo Alexandre (2001) na pera 'Rocha' a cor com a maturação vai evoluindo desde verde (devido à clorofila) até ao amarelo. Na pera 'Rocha' o início da colheita deve iniciar-se quando predomina uma tonalidade de verde-claro, sendo essa determinação efetuada através de comparação com cartas colorimétricas-padrão ou com escala arbitrária estabelecida pelo próprio produtor, podendo recorrer-se também a colorímetros (Alexandre, 2001)

Calibre e cor da semente

O calibre é um dos métodos mais antigos de avaliar a maturação, pois a mudança no tamanho de qualquer cultura de frutos ou vegetais enquanto cresce é frequentemente usada para determinar a maturação e a qualidade à colheita, tendo em conta que mais próximo da maturação maior será o fruto (Ahmad e Siddiqui, 2015)

Em pera 'Rocha', o calibre representa uma importante ajuda para a previsão de colheita (Alexandre, 2001). Contudo é utilizado com expressão, sobretudo nos vegetais, são colhidos quando atingem tamanho comercializável, antes de se tornarem muito grandes (Reid, 2002)

Segundo Tvergyak (1985) embora existam bons modelos de previsão do tamanho do fruto com base em temperaturas e no tamanho do fruto no início do crescimento, o calibre não é bom indicador de maturação, pois frutos provenientes de florações tardias permanecerão pequenos na colheita, mas podem estar maduros. Este índice está também muito dependente dos fatores de pré-colheita (Crisosto, 1994).

Em pera 'Rocha' o calibre foi referenciado como um fator que influencia o risco de acastanhamentos internos, aumentando quando em frutos têm calibre superior a 75 mm (Almeida, 2017).

A cor da semente pode também ser usada para determinar o grau de maturação (Dobrzanski *et al.*, 2006). Em pera 'Rocha', um indicador de maturação é a cor da semente, a partir do momento em que estas apresentem 90% da sua cor branca e o restante creme a castanho claro, pode dar-se início à colheita, uma tonalidade mais escura significa que a maturação se encontra num estado mais avançado (Alexandre, 2001). Contudo a pera 'Rocha' é essencialmente partenocárpica, apresentando muitas vezes apenas sementes abortadas, o que dificulta a aplicação deste método. Em maçãs este teste funciona melhor para variedades de maturação precoce (Dobrzanski *et al.*, 2006).

Firmeza da polpa

A firmeza é dos métodos mais satisfatórios para avaliar a maturação (Reid, 2002). Em pera é dos métodos mais confiáveis e difundidos pelo mundo (Tvergyak, 1985; Ahmad e Siddiqui, 2015) Em pera 'Rocha' é largamente dos testes mais utilizados, sendo o método mais técnico que permite uma avaliação rápida do estado de maturação dum fruto, sobretudo em peras (Alexandre, 2001)

A textura ou firmeza de qualquer fruta muda durante a maturação (Ahmad e Siddiqui, 2015). Ao longo deste período de maturação a perda da dureza da polpa é devido a uma progressiva hidrólise das protopectinas (hidrólise dos compostos pécticos) (Alexandre, 2001). Estas mudanças na dureza dos frutos podem ser detetadas pelo simples toque, um produtor mais experiente pode pressionar os frutos e avaliar se se encontra na época ideal de colheita, contudo em peras e maçãs são mais utilizados os penetrómetros manuais, que perfuram a polpa, podem ser portáteis ou fixos numa mesa, ou laboratoriais. (Ahmad e Siddiqui, 2015). Em pera 'Rocha' para a determinação da dureza da polpa recorre-se normalmente ao penetrómetro, exprimindo-se a dureza, no caso das peras, em Kg/0,5 cm² (Alexandre, 2001). Uma das críticas a este método é a força que se aplica no êmbolo, determinando a velocidade com que perfura o fruto, pois se for demasiado rápido pode induzir falsas leituras (Dobrzanski *et al.*, 2006).

Segundo Alexandre (2001) a determinação da dureza dever-se-á efetuar pelo menos 10 a 15 dias antes do período normal do início da colheita e deve repetir-se aos 4 a 5 dias; para prever estas datas o número de dias após a plena floração, pode ser um índice adequado.

A amostra dos frutos tem elevada importância para o sucesso do método (Bramlage, 1983). Frutos grandes, têm geralmente durezas menores do que os mais pequenos, assim, para as medições de firmeza devem-se escolher frutos de diâmetro relativamente uniforme e que sejam representativos do pomar (Bramlage, 1983; Dobrzanski *et al.*, 2006). A colheita da amostra tem então um papel importante, para pera 'Rocha' os frutos devem ser colhidos a 1,5-2m do solo, rejeitando-se os frutos demasiado pequenos do interior da árvore, assim como os muito exteriores e de maior calibre, devendo optar-se por uma zona intermédia segundo os 4 pontos cardeais da árvore, selecionando cinco árvores representativas da parcela, apanhando quatro frutos por árvore e fazendo-se 2 a 3 testes por fruto (Alexandre, 2001). Também a temperatura da amostra requer alguma atenção, pois a dureza tende a ser ligeiramente menor em frutos que se encontram quentes (Alexandre, 2001).

Segundo Alexandre (2001) a colheita da pera 'Rocha' poderá iniciar-se quando os valores de dureza estiverem entre 5,5 – 6,5 kg/cm². Contudo, segundo Almeida (2017) se forem conservadas sem tratamentos pós-colheita como difenilamina, etoxiquina ou 1-metilciclopropeno, o risco de acidentes fisiológicos internos aumenta quando os frutos são colhidos com estado de maturação avançada, ou seja, firmeza inferior a 6 kg/cm². Já para conservar os frutos, sem tratamento pós-colheita, até Maio/Junho devem ser colhidos com durezas entre 6 e 7 kg/cm², ou caso de pretenda conservar apenas até Abril, devem ser colhidos com durezas entre 5 e 5,5 kg/cm² e armazenados em frio normal com 1-MCP (Almeida, 2017).

Índice refratométrico

Em frutos climatéricos há acumulação de hidratos de carbono durante a maturação sob a forma de amido (Ahmad e Siddiqui, 2015). À medida que a fruta amadurece, o amido é convertido em açúcares (Dobrzanski *et al.*, 2006; Ahmad e Siddiqui, 2015). A quantidade de açúcares vai aumentando à medida que a maturação vai progredindo (Tvergyak, 1985).

O índice refratométrico evidencia o teor em sólidos solúveis existentes nos frutos, dos quais fazem parte os açúcares (Alexandre, 2001). Este método permite de forma rápida medir a quantidade de açúcar presente nos frutos usando um refratómetro, basta colocar uma gota de sumo do fruto no prisma do refratómetro e registar a leitura (Ahmad e Siddiqui, 2015). O

valor medido em graus Brix, ou seja, o açúcar em solução, à medida que os frutos amadurecem, as leituras do refratômetro aumentam, indicando que a maturação está a evoluir (Alexandre, 2001; Dobrzanski *et al.*, 2006).

Este índice, para além de estar ligado ao estado de maturação do fruto, é importante também para a sua qualidade organolética, pois permite apreciar a quantidade de açúcar presente no fruto uma vez que 80% da matéria seca de um fruto são açúcares (Alexandre, 2001). Em pera 'Rocha' existem valores mínimos, para que o fruto seja considerado de qualidade superior, que devem estar presentes no momento da colheita (Alexandre, 2001). Segundo ANP (2009) os valores mínimos à colheita situam-se entre 11 e 13 graus Brix.

Quando o índice refratométrico é utilizado para avaliar a maturação de peras com o objetivo de serem conservadas, este indicador torna-se desadequado devido à variabilidade causada pelos fatores de pré-colheita, contudo a percentagem de sólidos solúveis para frutos armazenados deve ser no mínimo de 10% para obter frutos de melhor qualidade e ajudar a prevenir danos pelo frio no armazenamento (Tvergyak, 1985).

Acidez total

Em diversos frutos, a acidez muda durante a maturação e amadurecimento, reduzindo progressivamente à medida que a fruta amadurece na árvore, (Ahmad e Siddiqui, 2015). A quantidade de ácido presente está então relacionada com fase de maturação, mas deve ser olhado como um padrão, ou seja, uma descida na quantidade de ácido é um indicador de que o fruto avançou na maturação (Dobrzanski *et al.*, 2006).

A acidez é o parâmetro complexo de determinar pela sua exigência laboratorial e de preparação, sendo a sua determinação baseada numa reação ácido-base, sendo o resultado expresso em meq/l (ácido málico) ou em g/l (gramas de ácido málico por litro de sumo) (Alexandre, 2001).

Contudo a acidez não é tomada como um método de maturação por si só (Ahmad e Siddiqui, 2015). É assumido como um índice pobre da maturação dos frutos, pois as variações anuais e entre pomares são comuns, por exemplo, para uma amostra em 1979 para o período de agosto a setembro, os níveis de ácido para Anjou começaram em 6,2 meq / 100 mL de sumo e foram para 4,9 meq / 100 mL de sumo, já em 1980, durante o período de julho a setembro, Anjou começou com 5,3 meq / 100 mL de sumo e passou a 3,5 meq / 100 mL de sumo, concluindo que não há diferenças significativas para usar a acidez como um indicador da maturação (Tvergyak, 1985).

Segundo Alexandre (2001) para a obtenção de uma pera 'Rocha' de boa qualidade a acidez deverá apresentar valores até cerca de 2,2 gramas de ácido málico por litro de sumo, ou seja, a qualidade da pera é tanto maior quanto maior a quantidade de açúcares e em especial o balanço entre o ácido e os açúcares. Níveis mais altos de ácido afetam positivamente o sabor, melhorando a qualidade e a comercialização (Tvergyak, 1985). Durante a conservação o teor de ácidos vai diminuindo ao longo do tempo (Alexandre, 2001).

Taxa de regressão do amido

Durante a maturação o amido transforma-se em açúcares solúveis por hidrólise, podendo ser bom indicador do seu estado de maturação (Alexandre, 2001). Em situações específicas pode sofrer uma variação anual nos níveis de amido levando a previsões menos

confiáveis (Tvergyak, 1985), mas de uma maneira geral o teor de amido é uma técnica confiável e usada para determinar a maturidade nas cultivares de maçã e pera (Dobrzanski *et al.*, 2006; Ahmad e Siddiqui, 2015). Este teste possibilita a apreciação do conteúdo em amido na polpa dos frutos e a extrapolação do seu grau de maturação, ou seja, uma menor quantidade de amido e a uma maior de açúcares, corresponde um fruto mais maduro (Alexandre, 2001).

Este método envolve o corte dos frutos e mergulhar as peças cortadas em uma solução de iodeto de potássio, as superfícies cortadas mancham para uma cor azul-preta em locais onde o amido está presente (Ahmad e Siddiqui, 2015). Em pera 'Rocha' esta superfície corada deve ser comparada com a tabela de regressão do amido para pera 'Rocha' de Avelar e Rodrigues (1999), para se obter uma classificação mais objetiva (Alexandre, 2001).

Segundo Alexandre (2001), este teste deve-se iniciar cerca de um mês antes da colheita, repetindo-se semanalmente e iniciar a colheita quando 40 – 60 % da área da secção equatorial da polpa do fruto apresenta um tom bege claro.

Em pera 'Rocha' quando o objetivo é a conservação os valores da taxa de regressão do amido, à colheita, devem-se situar entre 5 e 7, já frutos com taxa de regressão do amido de valores inferiores a 4 dificilmente amadurecerão e valores iguais ou superiores a 8 terão de entrar no circuito comercial o mais rápido possível (Alexandre, 2001).

Índice de Streif

Na região Oeste de Portugal, onde é maioritariamente produzida a pera 'Rocha' existe uma grande irregularidade nos calibres e no estado de maturação, tanto no pomar, como na da própria árvore, pelo que se deve ponderar sempre vários métodos de avaliar a maturação e nunca apenas um por mais garantias que nos possa oferecer (Alexandre, 2011).

O índice de Streif, resulta da ponderação de três bons testes: a dureza da polpa, o índice refratométrico e da taxa de regressão do amido, o índice é expresso pelo coeficiente [dureza / (índice de amido * concentração de sólidos solúveis)] (DeLong *et al.*, 1999). Segundo Alexandre (2001) este índice, permite avaliar mais corretamente o estado de maturação do fruto visto esses três parâmetros serem aqueles que mais drasticamente variam durante o período de maturação.

O índice de Streif é muito utilizado, quer em pera como em maçã, como indicador da maturação dos frutos, bem como para a segregação de lotes para conservação (De Long *et al.*, 1999, Alexandre, 2001; Zude-Sasse *et al.*, 2002; Tijssens *et al.*, 2008, Chiriboga *et al.*, 2013). Em pera 'Rocha' o índice de Streif, quando começar a colheita, deverá situar-se entre valores 0,07 – 0,09 (Alexandre, 2001).

2.3.2. Fatores de pré-colheita

Os frutos colhidos de uma mesma árvore e ao mesmo tempo podem ter tempos de comercialização e conservação diferentes, pois existem diversos fatores envolvidos tornando estas relações complexas (Thompson, 2015).

A maturação e os métodos para a avaliar podem ser influenciados pelas condições do solo e nutrição, pelas condições climáticas, pela posição do fruto na árvore, pelas práticas culturais e pela variedade.

Condições do solo e nutrição

O tipo de solo e a sua fertilidade afeta a composição mineral das culturas, assim como, excesso ou carência de alguns elementos influenciando a qualidade e a pós-colheita (Thompson, 2015).

Tem sido estudada a aplicação de fertilizantes às culturas e sua influência na pós-colheita sobretudo na taxa de respiração (Thompson, 2015). O estado nutricional das plantas parece também influenciar a firmeza, e o índice refratométrico (Dobrzanski *et al.*, 2006)

Relativamente ao azoto, em pera 'Rocha', quando se encontra em excesso diminui o período entre a plena floração e a colheita, influenciando o número de dias após a plena floração até à colheita (Alexandre, 2001). Em maçã, maior teor de azoto é inversamente proporcional à cor amarela ou vermelha do fruto, e está associado positivamente à respiração e ao etileno (Fallahi *et al.*, 2010). Também em maçãs 'Golden Delicious' os frutos com maior teor em azoto possuem uma epiderme mais verde (Rease, 2007). No geral, frutos com maior teor de azoto, mostraram também menos dureza da polpa, menos sólidos solúveis e acidez (Bramlage, 1983; Raese, 2007; Silva, 2008b). A pera 'Rocha' não é exceção, segundo Alexandre (2001) o azoto em excesso parece reduzir a dureza da polpa.

Segundo Thompson (2015) a taxa respiratória de frutos com baixo teor em fósforo é 21% superior a frutos ricos em fósforo durante 16 dias a 23°C, e frutos com valores mais baixos de fósforo iniciam o climatérico cerca de 40 horas após a colheita, atingem o pico do climatérico 72 horas após a colheita e passadas 90 horas a taxa respiratória decresce até valores de pré-climatérico. A diferença na taxa respiratória, entre frutos com valores de fósforo mais baixos e mais altos é de 57% durante o climatérico, sendo diferente para frutos com baixo teor em fósforo, mas não está associado a um aumento da concentração de etileno ou amadurecimento (Thompson, 2015). Níveis elevados de fósforo no solo demonstraram aumentar as concentrações de açúcar e diminuir a acidez (Silva, 2008b).

Segundo Thompson (2015) a aplicação de fertilizantes à base de potássio trouxe benefícios na pós-colheita, mas houve indícios de um aumento da acidez das culturas e excesso de aplicações de potássio mostraram inclusive efeitos negativos. A fertirrigação à base de potássio em quatro cultivares de maçã aumentou o tamanho, a acidez e a cor do fruto, mas diminuiu a dureza à colheita. (Fallahi *et al.*, 2010). Em pera 'Rocha' os valores do índice refratométrico podem ser superiores à média quando o fruto provém de uma árvore excessivamente adubada em potássio (Alexandre (2001).

Os frutos ricos em cálcio tendem a estar relacionados com a firmeza (Fallahi *et al.*, 2010). Foi estudado o efeito de aplicações pré-colheita, de cálcio em pera e maçã, em que 'Delicious' e 'Golden Delicious' mostraram uma redução na incidência de bitter-pit, escaldão e acastanhamentos internos, após o armazenamento; também a qualidade das maçãs foi influenciada melhorando a firmeza, acidez total e suculência, já em peras 'Anjou' houve um aumento substancial da firmeza (Raese e Drake, 2008). Também Ahmad e Siddiqui (2015) relacionaram o uso de solução de cálcio em aplicação foliar com o aumento da dureza dos frutos, aumento da vida útil. Altas concentrações de cálcio no solo estão também relacionadas com aumento da vitamina C, atraso na colheita, aumento da dureza e redução da respiração e produção de etileno (Silva, 2008b).

Condições climáticas

A pereira 'Rocha' está localizada em regiões caracterizadas por microclimas próprios, com plantações em várzea e em meias encostas expostas a Norte e Sul, na maior parte das vezes com problemas de falta de frio no Inverno, estas condições provocam frequentemente florações irregulares e estendidas no tempo, exigindo por vezes uma colheita por mondas; este escalonamento das florações dificulta a análise de alguns aspetos fenológicos, como é o caso da plena floração (Alexandre, 2001). Mas caso as temperaturas estejam baixas durante o ano, pode levar a um aumento do número de dias após a plena floração e a colheita (Alexandre, 2001).

Segundo Alexandre (2001), na região Oeste, quando o tempo decorre fresco e nublado durante o Verão, ainda que seja favorável às árvores, os frutos perdem qualidade, tendo menos açúcares e ácidos. O teor de açúcar será maior em anos de disponibilidade reduzida de humidade, altas temperaturas e alta luz solar, pois ocorre uma fotossíntese considerável possuindo sólidos solúveis mais elevados (Dobrzanski *et al.*, 2006). O conteúdo de amido pode ser influenciado pelo período de calor e maior exposição solar, formando-se maior quantidade de amido (Alexandre, 2001).

A cor da epiderme depende sobretudo da amplitude térmica, ou seja da diferença entre as temperaturas diurnas e noturnas registadas durante a fase de desenvolvimento do fruto (Alexandre, 2001).

Posição do fruto na árvore

Os frutos que estão posicionados na árvore, que constantemente recebem a luz solar são frutos com diferentes parâmetros, qualidade e comportamento pós-colheita, dos frutos que estão em zona de sombra (Thompson, 2015).

Quando uma pera provém do interior da árvore, tem uma dureza de polpa mais baixa relativamente à dureza média determinante do verdadeiro estado de maturação (Kappel e Nielsen, 1994; Alexandre, 2001; Thompson, 2015) Estes frutos provenientes de zona interior da árvore têm pouco amido porque se degrada rapidamente (Alexandre, 2001).

Frutos provenientes de áreas mais expostas, onde ocorre mais fotossíntese, possuem teores de sólidos solúveis mais elevados, do que frutos muito ensombrados e localizados dentro da árvore ou provenientes de esporões mais fracos, que recebem menor quantidade de fotoassimilados e, por isso, têm o menor índice refratométrico (Kappel e Nielsen, 1994; Dobrzanski *et al.*, 2006). Também em pera 'Rocha', por vezes, o fruto da parte interna de uma árvore em formação não alcança o nível mínimo de açúcares preconizados (Alexandre, 2001).

Práticas culturais

Os frutos provenientes de árvores com rega evidenciam uma redução da dureza da polpa (Alexandre, 2001). Também se existir uma quebra rápida na rega pode reduzir os valores da dureza na medida em que pode haver um avanço na maturação (Bramlage, 1983).

Os frutos de árvores com maior número de frutos terão teores de sólidos solúveis mais baixos do que frutos de árvores com menor número de frutos sob condições semelhantes de crescimento (Dobrzanski *et al.*, 2006). Em pera 'Rocha', o número de dias após a plena

floração e a colheita pode aumentar caso a colheita do ano anterior tenha sido excessiva (Alexandre, 2001).

Em maçãs, também a aplicação de ácido giberélico (10 ppm), numa altura de coloração, resulta em atraso no desenvolvimento de cores e mantém a firmeza, prolongando o período de colheita (Ahmad e Siddiqui, 2015).

A poda, ao influenciar a exposição solar dos frutos na árvore, pode também afetar os índices de maturação.

Cultivar

A escolha da cultivar é um fator importante, pois permite escolher variedades com janelas de colheita adequadas e as características de qualidade pretendidas (Silva, 2008b). Contudo, quando a cultivar é a mesma, neste caso, a pera 'Rocha', este fator deixa de pesar nos índices de maturação à colheita.

2.3.3. Índices de maturação não destrutivos

Recentemente, a pesquisa relativamente aos métodos de avaliação da maturação, têm apontado para o uso de métodos não destrutivos. Estes métodos permitem definir o estado de maturação de grandes amostras de frutos, e também permite monitorizar alterações fisiológicas ao longo do tempo na mesma amostra (Gutierrez, 2014).

Estes novos métodos permitem avaliar a qualidade dos frutos e aproximar das avaliações humanas, sendo muitas vezes preferidos às avaliações sensoriais em estudos e situações comerciais porque reduzem as variações de subjetividade e fornecem uma linguagem comum entre comunidade científica, indústria e consumidores (Abbott, 1999)

Esses métodos não-destrutivos podem englobar procedimentos como: testes mecânicos (textura e vibrações sonoras); tecnologias eletromagnéticas (luz visível, infravermelho, ultravioleta, raios-X), fluorescência, ressonância magnética e expressão genética (Abbott, 1999; Jha e Matsuoka, 2000; Butz *et al.*, 2005; Nicolai *et al.*, 2005; Nicolai *et al.*, 2009; Newald e Streif, 2012).

A espectroscopia de infravermelho próximo é dos métodos mais difundidos e utilizados para avaliar os parâmetros de qualidade (Liu and Ying, 2005; Nicolai *et al.*, 2007; Santos, 2009; Subedi e Walsh, 2009; Bertone *et al.*, 2012). As potencialidades da espectroscopia de infravermelho próximo (NIRS) foram avaliadas através do espectrofotómetro NIR CASE, para a estimação de atributos de qualidade (dureza, teor sólidos solúveis e matéria seca) em pera 'Rocha' e maçã 'Gala', os resultados mostram que o NIR CASE pode ser utilizado para prever o teor em sólidos solúveis e matéria seca com exatidão em pera 'Rocha', e o teor em sólidos solúveis em maçã 'Gala', no entanto, para a avaliação da dureza não se mostrou adequado (Santos, 2009). Também Subedi e Walsh (2009) não recomendam a avaliação da firmeza utilizando a espectroscopia de infravermelho próximo. Liu e Ying (2005) em maçãs 'Fuji' também concluíram que a espectroscopia de infravermelho próximo poderia ser um método rápido para medidas não invasivas de teor de sólidos solúveis e acidez em maçã. A espectroscopia NIR evidencia ser uma medida não destrutiva do teor de sólidos solúveis da fruta, mas também outras aplicações envolvendo textura, matéria seca, acidez ou desordens de frutas e legumes têm sido estudados (Nicolai *et al.*, 2007).

A utilização da espectroscopia de infravermelho próximo tem sido conjugado com a espectroscopia do visível para os parâmetros de qualidade bem como métodos de avaliar a maturação (Mehinagic *et al.*, 2003). Foram efetuadas medições espectrométricas na gama do visível / infravermelho próximo (Vis / NIR), feitas com um espectrómetro policromático de baixo custo, que operam na faixa de 500-1100 nm, em maçãs 'Royal Gala' e correlacionado com cor de fundo, índice de amido, teor de sólidos solúveis, firmeza, amido quantitativo e acidez titulável e apenas se mostrou interessante para teor em sólidos solúveis (McGlone *et al.*, 2002). Liu *et al.*, (2008) também obtiveram boas correlações entre a espectroscopia Vis/NIR e o teor em sólidos solúveis, enquanto que Zude *et al.* (2006) mostraram não ser possível correlacionar o teor em sólidos solúveis e a firmeza em maçãs 'Golden Delicious' e 'Idared' já conservadas. Relativamente à correlação entre a espectroscopia Vis/NIR e o índice de Streif em maçãs, também não se mostrou muito preciso (Peirs *et al.*, 2005).

Foram também efetuados estudos com a gama de UV-Vis, sendo aplicada no modo de reflectância difusa, para monitorar variações no teor de clorofila na epiderme de maçãs vermelhas 'Scarlet' durante o amadurecimento na árvore, e obteve resultados muito satisfatórios (Bertone *et al.*, 2012). Outros trabalhos com métodos eletromagnéticos foram realizados, como, medições dielétricas em maçã durante a maturação, a fim de encontrar relações com compostos fisiológicos de maçã (teor de açúcar, ácido málico), em que foram obtidas boas correlações (Castro-Giráldez *et al.*, 2010). Segundo Nicolai *et al.* (2009), foram estudadas duas técnicas de tomografia não destrutivas para a detecção direta e 3D de defeitos internos em produtos hortícolas, a tomografia computadorizada de raios-X e ressonância magnética, embora a ressonância magnética tenha sido recentemente demonstrada como aplicável para detecção de defeitos internos, a tomografia de raios-X tem a vantagem de obter imagens de alta resolução da estrutura celular do material vegetal (Nicolai *et al.*, 2009).

As propriedades do som foram também testadas, por exemplo, para monitorizar alterações de firmeza de peras 'Conference' e 'Doyenné' na árvore, foi utilizado um método de resposta ao impulso acústico não destrutivo, em ambos os anos, a firmeza mostrou uma redução súbita entre três semanas e uma semana antes da colheita para cerca de $23 \text{ kHz}^2 \text{g}^{2/3}$ para 'Conference', e em média, $31,5 \text{ kHz}^2 \text{g}^{2/3}$ para peras 'Doyenné', concluindo-se que existe uma correlação entre a firmeza não-destrutiva e a firmeza destrutiva alta (coeficiente de correlação = 0,82); também o conteúdo de sólidos solúveis foi razoavelmente bem correlacionado com as medidas de firmeza (De Belie *et al.*, 2000). Uma técnica com base na velocidade do som em conjunto com um método de avaliar a firmeza não destrutivo, foram testados em banana, manga e pêssago, a velocidade da onda de vibração ("som") que se move através da fruta diminuiu durante o amadurecimento de todos os frutos, e a firmeza da fruta avaliada usando um penetrómetro (Fpen) foi linearmente correlacionada ($R^2 > 0,8$) com a velocidade do som na manga, mas não com pêssago ou banana, concluindo-se que a técnica de velocidade do som é interessante para a monitorização do amadurecimento dos frutos, mas mais limitado que leitura do penetrómetro (Subedi e Walsh, 2009).

Relativamente à utilização de métodos para avaliar a firmeza não destrutivamente, foram comparados o método de Magness-Taylor's com o método não destrutivo, método de Fekete, os testes foram realizados em frutos de quatro cultivares de maçã e duas de pera, maior coeficiente de correlação ($r > 0,890$) entre os métodos de Magness-Taylor's e Fekete foi observado para as peras com firmeza abaixo de 20 N (medida pelo método Magness-Taylor's), concluindo-se que o método de medição do coeficiente de elasticidade pelo método de Fekete é adequado para a determinação da firmeza de materiais elásticos como as peras já maduras, mas não deve ser recomendado para a investigação de maçãs e peras duras e recém-colhidas (Plocharski *et al.*, 2000).

O método da fluorescência da clorofila tem por base o seguinte: a energia solar absorvida por moléculas de clorofila pode sofrer um dos três destinos, pode ser usada para fotossíntese, ou o excesso de energia é dissipado sob forma de calor ou pode ser reemitido como luz, sendo esta última a fluorescência da clorofila (Maxwell e Johnson, 2000). A relação entre este método e a maturação, advém da correlação entre a clorofila e o amadurecimento (Knee, 1972). Em pera 'Rocha' este método é utilizado sobretudo na conservação, aplicado aos sensores que monitorizam os frutos em atmosfera controlada dinâmica (Deuchande *et al.*, 2014).

Outro método utilizado para avaliar a maturação é a expressão genética. Foram efetuados trabalhos, neste âmbito, em três cultivares de maçã: 'Gala', 'Fuji' e 'Braeburn' foram amostradas três vezes no período que antecedeu a colheita e duas vezes após a colheita ideal, e a expressão genética dos frutos foi relacionado com o índice de Streif (Neuwald e Streif, 2012).

DA meter

O DA-meter é um dispositivo portátil e não destrutivo para avaliação da maturação dos frutos (Ziosi *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2009). Este aparelho tem por base a tecnologia da espectroscopia Vis/NIR (Costa *et al.*, 2009). O aparelho possibilita medir a absorvância em dois comprimentos de onda, a 670 nm e a 720 nm, sendo estes dois comprimentos de onda escolhidos porque são próximos do pico de absorvância da clorofila- α (Ziosi *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2009). O DA meter expressa um índice (I_{AD}) da diferença de absorvância que é calculado pela subtração entre a absorvância a 670 nm e a absorvância a 720 nm (Ziosi *et al.*, 2008). Este índice tem muito boa correlação ($r^2 = 0,98$) com o conteúdo de clorofila- α (Ziosi *et al.*, 2008). Estando a clorofila relacionada com a maturação (Knee, 1972; Knee, 1980; Solovchenko *et al.*, 2005) é viável usar o teor de clorofila como um método para avaliar a maturação dos frutos. Uma vez que a degradação da clorofila faz parte do processo natural de maturação, o I_{AD} fornece uma indicação do estado de maturação utilizando o teor de clorofila como índice fisiológico (Gutierrez, 2014). O valor de I_{AD} pode variar entre 0 e 3, em que valores mais altos indicam frutos menos maduros (Comunicação pessoal do fabricante).

O DA-meter foi estudado inicialmente em prunóideas. Ziosi *et al.*, (2008) em pêssegos e nectarinas obtiveram boas correlações entre o I_{AD} e a produção de etileno, com a expressão genética, com a firmeza e o teor em sólidos solúveis, afirmando ser uma ferramenta muito promissora, tanto para aplicações práticas como científicas, pois permite monitorizar a maturação dos frutos na árvore, bem como segregar lotes de frutos heterogêneos. Também com nectarinas, observou-se uma fraca correlação entre I_{AD} e SSC, contudo confirmou-se que o I_{AD} poderia ser usado como novo índice de maturação não destrutivo para a avaliação da qualidade de nectarinas no campo (Bonora *et al.*, 2013a). Os pêssegos das cultivares 'Big Top' e 'Rich Lady' foram segregados em 3 classes distintas de I_{AD} , os consumidores sentiram diferenças entre as classes, contudo a acidez e o teor em sólidos solúveis não mostrou diferenças significativas entre as classes, e a firmeza só se destacou significativamente a classe 1, das classes 2 e 3 (Noferini *et al.*, 2009). Segundo Infante *et al.* (2011), em ameixas 'D'Agén', o I_{AD} mostrou-se capaz de segregar classes de maturação de acordo com várias concentrações de sólidos solúveis e valores de dureza, mas frutos com um índice inferior a 1,59 não mostraram diferenças na firmeza, contudo os autores revelam que o I_{AD} pode ser importante para identificar qualitativamente ameixas, quer para consumo fresco, quer para processamento industrial.

Em maçãs, o I_{AD} foi utilizado em pré-colheita com maçãs 'Starking' mostrando coeficientes de determinação de R^2 de 0,79 a 0,64 entre o índice IAD e os níveis de amido, firmeza, TSS e acidez de frutos. Também três pomares das maçãs 'Starking', 'Granny Smith' e 'Pink Lady' foram colhidos e armazenados durante seis meses e os resultados para o I_{AD} à colheita e depois do armazenamento correlacionado com TSS ($r^2=0,76$), acidez e firmeza ($r^2=0,51$) das maçãs (Nyasordzi *et al.*, 2013). Segundo Toivonen e Hampson (2014), em três cultivares de maçã ('Aurora Golden Gala', 'Fuji' e 'Royal Gala') conservadas com 1-MCP e em frio normal ou atmosfera controlada, apenas a 'Fuji' mostrou correlação entre o I_{AD} e a concentração de etileno interno ($R^2 = 0,67$, $P < 0.05$) e com a acidez titulável ($R^2 = 0,89$, $P < 0.01$), mas não com a firmeza. Em maçãs 'Granny Smith' e 'Cripps Pink' foi definido o seu estado de maturação com auxílio do DA-meter e foram conservadas durante 6 meses a 1 °C, de 2 em 2 meses foi avaliado o teor total de α -farneseno e trienos conjugados, os resultados demonstram a fiabilidade do I_{AD} , não apenas para avaliar a maturação dos frutos, mas também para prever a incidência de escaldão entre as cultivares de maçã em função da maturação e da estratégia de controlo pós-colheita (Farneti *et al.*, 2015). Também com Gutierrez (2014), em maçãs 'Granny Smith' e 'Pink Lady', o I_{AD} foi utilizado para segregar os frutos em diferentes estados de maturação que se comportaram de forma diferente durante o armazenamento, também o I_{AD} correlacionou-se com a redução da firmeza durante a conservação e com a incidência de escaldão, sendo os frutos menos maduros mais suscetíveis, revelando-se um bom índice para o armazenamento a longo prazo. Em pera, o I_{AD} revelou um comportamento semelhante ao dos restantes frutos, evidenciando uma boa correlação com a maturação (Jajo *et al.*, 2014).

3. Material e Métodos

3.1 Localização e caracterização da unidade de experimentação

3.1.1 Localização

O material vegetal foi recolhido de três pomares distintos relativamente à sua localização, a parcela Barreiras da Bica (39.315589 N, -9.035166 W) situado na freguesia de A-dos-Francos, concelho das Caldas da Rainha, a parcela Quinta da Freiria (39.328106 N, -9.189459 W) situada na freguesia da Roliça, concelho do Bombarral e a parcela Tamuge (39.048784 N, -9.207742 W) situada na freguesia de Runa e concelho de Torres Vedras. As zonas de recolha de frutos estão assinaladas nas respetivas parcelas como é apresentado no Anexo1, Figura A30.

3.1.2 Gestão dos pomares

A escolha dos pomares foi feita tendo por base, minimizar a maior variabilidade entre as unidades de experimentação com a exceção da sua localização. Nos 3 pomares a cultivar é a 'Rocha' enxertada em EMA e a condução é em eixo central revestido. Dado os pomares possuírem áreas consideráveis e alguma variabilidade intrínseca (ano de plantação e densidade) optou-se por escolher as seguintes unidades de experimentação, caracterizadas conforme é apresentado no Anexo1, Quadro A24.

Os pomares possuem rega gota-a-gota, uma linha com gotejadores de débito nominal de 4 l/h. As infestantes na linha são controladas com uso de herbicida, na entrelinha são efetuados cortes de enrelvamento.

O controlo de pragas e doenças é feito com base nas normas da proteção integrada, tendo em consideração a distinção das zonas de produção, foram expectáveis as diferenças de intervenções.

A nutrição é efetuada de acordo com a interpretação das análises de folhas, solo e água.

3.1.3 Solo

Foram realizadas análises ao solo dos três pomares nas parcelas correspondentes á zona de estudo. Na análise sumária são apresentadas algumas diferenças entre os pomares, tal como está apresentado no Anexo1, Quadro A25. As principais diferenças são no teor de matéria orgânica e na textura do solo.

Relativamente à análise do complexo de troca as principais diferenças são entre o pomar C e os restantes, tal como exibido no Anexo1, Quadro A26. O pomar C apresenta um complexo de troca catiónica classificado como muito alto, caracterizado pelo alto teor em cálcio, enquanto, o pomar A e B possuem um complexo de troca baixo e o teor em cálcio médio e baixo respetivamente.

Na apreciação às análises ao teor de macronutrientes e micronutrientes (Anexo 1, Quadro 27), existem algumas diferenças. Ao nível dos macronutrientes destaca-se o teor de

potássio, muito alto, no pomar C e do teor igualmente muito alto, de fósforo no solo do pomar B. Os restantes pomares registam valores de fósforo e potássio, altos. Na análise aos micronutrientes são registadas, igualmente, algumas diferenças sobretudo nos níveis de boro, manganês e zinco.

3.1.4 Caracterização do material vegetal

Folhas

Foram analisados os teores em nutrientes dos pomares no ano decorrente do estudo. A recolha do material vegetal para análise realizou-se entre 90 a 120 dias após a plena floração.

As análises foliares revelam diferenças entre os pomares. Ao nível dos macronutrientes a diversidade entre pomares é transversal a todos os pomares, tal como é mostrado no Anexo1, Quadro A28.

No Anexo1, Quadro A29 são mostradas as análises foliares efetuadas nos pomares em estudo, estão expressos, mais precisamente, os teores de micronutrientes. Os pomares apresentam algumas diferenças entre eles sobre tudo nos teores de ferro, cobre, zinco e manganês. Os valores de boro e molibdénio são em todos os pomares considerados de “Adequados”.

Frutos

Foram feitas análises aos frutos no dia 21 de Agosto de 2015, estes foram enviados para o laboratório Kudam (Espanha), nas amostras foram avaliados os teores em matéria seca, macronutrientes e micronutrientes.

No Anexo1, Quadro A30 estão contemplados os valores de matéria seca dos vários pomares, destaca-se o pomar A e C com os níveis mais elevados. No mesmo Anexo1, Quadro A30 está contabilizado o conteúdo dos frutos em diversos macronutrientes considere-se algum relevo para os valores mais baixos de azoto e de valores mais elevados de cálcio do pomar C relativamente aos outros 2 pomares. Contrariamente o pomar B é o que possui os valores mais elevados de azoto, mais baixos de cálcio e também de fósforo e magnésio. Destaque também para o alto teor de sódio dos frutos do pomar B.

Os valores de micronutrientes estão apresentados no Anexo1, Quadro A31, sendo o pomar C que mais se destaca dos outros dois, maior conteúdo em boro e mais baixo em ferro, cobre e zinco. O manganês encontra-se abaixo dos 2 mg/kg em todos os pomares.

3.2 Delineamento experimental

Neste trabalho foram delineados um ensaio de campo e um ensaio de central.

No ensaio de campo foram colhidos frutos, de três pomares, ao longo de 45 dias. As colheitas tiveram uma cadência genericamente semanal e nelas foram avaliados diversos parâmetros de qualidade e introduzido o novo parâmetro, o I_{AD} .

No ensaio de central foram colhidos frutos dos três pomares e separados em três classes distintas de I_{AD} . Estes frutos foram também avaliados e colocados em conservação numa modalidade de frio normal e em atmosfera controlada dinâmica por períodos de tempo diferentes, quando retirados da conservação foram avaliados à saída da câmara e com 5 dias de tempo de prateleira, nestas duas colheitas foram avaliados novamente os parâmetros de qualidade. Aos 7 dias de tempo de prateleira foram avaliadas as desordens fisiológicas, acastanhamento interno e escaldão superficial.

3.2.1 Ensaio de campo

Nos três pomares foram selecionadas 8 árvores representativas da parcela e nas datas apresentadas no Quadro 3 foram colhidos os frutos para a análise. Os frutos foram colhidos aleatoriamente sempre do terço médio nas 8 árvores, sendo esta a unidade de experimentação.

Quadro 3 - Caracterização do delineamento experimental do ensaio de campo

Pomar	Datas de colheita	Código da data de colheita	Nº Frutos	Análises	Nº Frutos	Análises
A - Barreiras	27/07/2015	A	40	I _{AD} , Cor, Peso, Calibre, Firmeza, °Brix, Amido, Acidez, Vitamina C, Fenóis	20	Etileno, I _{AD} , Peso, Calibre
B - Freiria	03/08/2015	B	40			
	10/08/2015	C				
	14/08/2015	D				
	19/08/2015	E				
C - Tamuge	27/08/2015	F	40			
	01/09/2015	G				
	09/09/2015	H				

Foram efetuadas 8 colheitas de 60 frutos durante 7 semanas, desde 27 de Julho a 9 de Setembro, perfazendo um total de cerca de 480 frutos, por cada pomar.

No mesmo dia da colheita, em laboratório foram usados 40 frutos de cada pomar para medir o I_{AD} , a cor, o calibre, o peso, a firmeza, o °Brix e o amido. Estes mesmos frutos foram formados 8 grupos de 5 peras para extrair sumo e medir a respetiva acidez, vitamina C e fenóis.

Os restantes 20 foram usados para medir o etileno, sendo novamente medido o calibre, o peso e o I_{AD} , efetuando medições com 4 repetições de 5 frutos cada.

No momento da colheita comercial, ou seja, altura em que o produtor iria realizar a colheita, foram colhidos os frutos do pomar. Contudo permaneceram as árvores que compoñham a unidade experimental de forma a dar continuação à monitorização dos parâmetros de qualidade mesmo depois da colheita.

3.2.2 Ensaio de central

No dia 14 de Agosto de 2015 procedeu-se à colheita dos frutos de cada pomar, foram medidos e divididos por classes de I_{AD} ; são elas a classe 1 que compreende valores de 1,4-1,6, a classe 2 de 1,6-1,8 e a classe 3 de 1,8-2,0. Esta informação está condensada na Tabela 10. Os valores das classes de I_{AD} foram indicados pelo fabricante do DA Meter em informação pessoal.

Quadro 4 – Esquematização da divisão das classes de I_{AD} por pomar

Lote	Classes de I _{AD}	Código da Classe de I _{AD}	Pomar	Data de colheita
1,4-1,6 A	1,4-1,6	1	A - Barreiras	14/08/2015
1,6-1,8 A	1,6-1,8	2		
1,8-2,0 A	1,8-2,0	3		
1,4-1,6 B	1,4-1,6	1	B - Freiria	
1,6-1,8 B	1,6-1,8	2		
1,8-2,0 B	1,8-2,0	3		
1,4-1,6 C	1,4-1,6	1	C - Tamuge	
1,6-1,8 C	1,6-1,8	2		
1,8-2,0 C	1,8-2,0	3		

Após a separação pelas classes de I_{AD} foram colocados cerca de 5 meses (23 semanas) em câmara de frio normal e 7 meses (31 semanas) em atmosfera controlada dinâmica. Como está exposto na tabela 13 foram consideradas duas datas de retirada dos frutos de conservação meramente para auxiliar a logística.

Quadro 5 - Caracterização dos dois tipos de conservação

Tipo de Conservação	Lote	Datas de retirada da conservação	Tempo de conservação
FN - Frio Normal	1,4-1,6 A	21/01/2016 e 22/01/2016	23 Semanas
	1,6-1,8 A		
	1,8-2,0 A		
ACD - Atmosfera Controlada Dinâmica	1,4-1,6 B	17/03/2016 e 18/03/2016	31 Semanas
	1,6-1,8 B		
	1,8-2,0 B		
	1,4-1,6 C		
	1,6-1,8 C		
	1,8-2,0 C		

Posteriormente à retirada dos lotes de conservação, considera-se sem tempo de prateleira, foram feitas análises aos frutos. Estas foram ao I_{AD} , cor, peso, calibre, firmeza, °Brix,

acidez, vitamina C e fenóis em que foram usados 30 frutos. Para o etileno foram usados 8 frutos, ou seja, 2 repetições de 4 frutos e desses foi caracterizado o I_{AD} , peso e calibre. Todas estas análises foram repetidas passados 5 dias de tempo de prateleira à temperatura ambiente.

Passados 7 dias de shelf-life foram avaliadas as desordens fisiológicas, nomeadamente o acastanhamento interno e o escaldão superficial em que foram usados 130 frutos de cada pomar e classe de I_{AD}

Quadro 6 - Parametrização das análises efetuadas em cada lote no ensaio de central

Tempo de prateleira	Nº de frutos/Lote	Análises	Nº de frutos/ Lote	Análises
0 dias	30	I _{AD} , Cor, Peso, Calibre, Firmeza, °Brix, Acidez, Vitamina C, Fenóis	8	Etileno, I _{AD} , Peso, Calibre
5 dias				
7 dias	130	Acastanhamento interno e escaldão superficial		

3.3 Condições de armazenamento

A conservação dos frutos foi realizada na central fruteira da organização de produtores CPF – Centro de Produção e Comercialização Hortofrutícola, Lda. localizada no Bombarral.

Os lotes de atmosfera normal (AN) estiveram em conservação durante 23 semanas, os lotes de atmosfera controlada dinâmica (ACD) estiveram durante 31 semanas.

Na modalidade de Frio Normal (FN), as peras foram conservadas numa câmara comercial de frio normal, sob uma temperatura de conservação de $-0,4^{\circ}\text{C}$, e humidade relativa entre 90 e 95%.

Na modalidade de atmosfera controlada dinâmica (ACD), as peras foram conservadas em câmara comercial num sistema de atmosfera controlada dinâmica, utilizando sensores de fluorescência da clorofila (FIRM, 'Harvestwatch') para determinação do início de fermentação. Após a última colheita foi aguardado o período de 1 dia para estabelecimento das condições temperatura na câmara comercial. De seguida, a 15 de Agosto, a câmara foi colocada em regime de atmosfera controlada com um 'pull down' de oxigénio rápido até 2% O_2 em 24 horas. O O_2 foi decrescendo lentamente até se verificar o alerta de início de fermentação, que ocorreu a 2 de Setembro e a um valor de 0,1% de Oxigénio. Após esta data e por uma questão de segurança o valor de oxigénio foi regulado para 0,5% e o CO_2 mantido a 0,5%. Até ao final da conservação não se verificaram mais registos de início de fermentação através dos sensores de fluorescência da clorofila. A humidade relativa foi mantida entre 90 e 95%.

3.4 Métodos de determinação das características de qualidade

3.3.1 Peso

A determinação do peso dos frutos foi efetuada com uma balança KERN S72, como é demonstrado na Figura 3. A balança tem precisão de decigramas, sendo cada fruto pesado individualmente. Os resultados são expressos em gramas (g).



Figura 3 - Medição do peso dos frutos utilizando uma balança KERN S72

3.3.2 Calibre

A medição do diâmetro equatorial de cada fruto foi efetuada na zona equatorial de maior diâmetro, recorrendo a uma craveira Mahr 16 EX, Figura 4. A craveira tem precisão de 0,01 milímetros, os resultados são apresentados em milímetros (mm).



Figura 4 - Medição do calibre com uma craveira Mahr 16 EX

3.3.3 I_{AD}

A determinação do I_{AD} foi feita com utilização do aparelho DA-meter. A medição foi efetuada na zona equatorial do fruto, em dois lados diametralmente opostos, encostando a borracha preta do aparelho ao fruto (Figura 5), para que a luz do exterior não interfira com o sensor. A calibração do aparelho é feita usando uma placa branca.

O DA-meter utilizado foi o modelo 53500, fabricado pela empresa TR Turoni S.R.L., Forlì, Itália. Tem escala de 0 a 3 de I_{AD} e resolução de 0,01, memória de 2GB e a temperatura

de trabalho é de 0 a 70 °C. O seu peso é 320 gramas e as dimensões são 165x80x50 mm, informação do fabricante.

Segundo Ziosi *et al.* (2008), I_{AD} é calculado através da expressão:

$$I_{AD} = A_{670} - A_{720}$$

Tendo em conta que I é a interação e A a absorvância do fruto, que é calculada através da expressão:

$$A = \log_{10} I^{-1}$$

Portanto o I_{AD} é a interação da absorvância do fruto para comprimento de onda de 670 nm a 720 nm.

Sendo o I_{AD} um índice não tem unidades.



Figura 5 - Medição do I_{AD} do fruto com utilização do DA-meter

3.3.4 Cor

Para a determinação da cor dos frutos foi utilizado um colorímetro CR-400 (Konica-Minolta, Osaka, Japan) (Figura 6), com este aparelho obtivemos as coordenadas CIE, L, a,b (McGuire, 1992). O equipamento foi calibrado com uma placa branca no início de cada uma das medições. A coordenada tonalidade (hue°) foi calculada pela equação:

$$hue^\circ = \arctan\left(\frac{b}{a}\right)$$

As medições com o colorímetro foram realizadas na zona equatorial dos frutos de cada tratamento.



Figura 6 - Medição da cor do fruto

3.3.5 Firmeza da polpa

A firmeza da polpa dos frutos foi utilizado um penetrómetro TR Turoni. FT 327 com capacidade até 13 kg e precisão de 0,1 kg. Para peras utiliza-se uma ponteira com o diâmetro de 8 mm e a dureza é expressa em $\text{kg}/0,5 \text{ cm}^2$ (Figura 7b). Na zona equatorial do fruto, em dois locais diametralmente opostos retira-se uma pequena porção da casca do fruto com auxílio de uma lâmina, como mostra a Figura 7a. Com o fruto seguro e apoiado na bancada insere-se o penetrómetro na polpa na superfície do fruto sem casca. A força tem de ser lenta e uniforme, até à ranhura do ponteiro. A penetração deverá ser sempre perpendicular ao corte feito. Registou-se o valor da força máxima dada pelo penetrómetro para os dois lados e calculou-se a média dos dois resultados. Os valores da dureza da polpa foram expressos em $\text{kg}/0,5 \text{ cm}^2$.



Figura 7 - Medição da dureza da polpa com uso de um penetrómetro TR Turoni FT 327. (a) Remoção de casca do fruto com lâmina. (b) Método de inserção do penetrómetro na polpa.

3.3.6 Teor em sólidos solúveis - °Brix

Na determinação do teor em sólidos solúveis - TSS usou-se um refratómetro – Hanna HI 96801 – 1 (Figura 8), com compensação de temperatura e graduado de 0 a 85 %. Antes de se iniciarem as medições o aparelho foi calibrado com água destilada. Para a medição do TSS, foram espremidas algumas gotas de sumo da pera e inseridas no óculo do refratómetro. A leitura do TSS é expressa em °Brix ou % Brix.



Figura 8 - Aparelho para medição do teor em sólidos solúveis, Hanna HI 96801

3.3.7 Amido

Os frutos da amostra foram cortados segundo o plano equatorial e emerge-se uma metade na solução de iodo, colocada num recipiente com fundo plano com cerca de 2 a 3 mm de altura e durante 30 segundos.

A solução é constituída por 10 g de iodo em palhetas, 40 g de iodeto de potássio diluído em 1 L de água destilada, a conservação foi feita em frasco de vidro isolado com papel de alumínio.

Os frutos foram escorridos entre 5 a 10 minutos ao ar. A presença de amido no fruto apresenta a cor escura, como é possível ver na Figura 9.

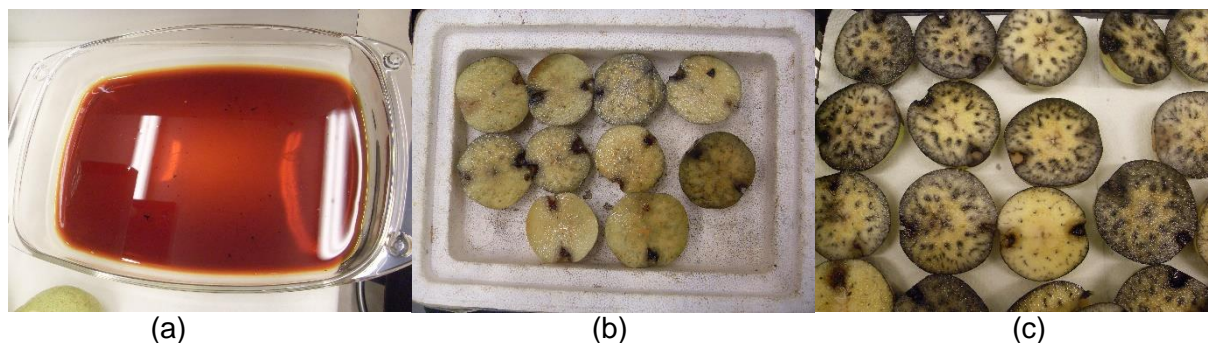


Figura 9 - Análise ao amido utilizando solução de iodo. (a) Solução de iodo. (b) Peras a secar. (c) Aspeto das peras coradas com iodo.

A classificação foi atribuída comparando a superfície corada do fruto com a tabela de regressão do amido para a pera Rocha de Avelar & Rodrigues (1999).

3.3.8 Acidez titulável

A determinação da acidez titulável baseia-se numa reação ácido base, ou seja, entre o ácido málico presente no sumo do fruto e a base que é o hidróxido de sódio.

Formou-se grupos de 5 peras para extrair o sumo.

Para a obtenção foram cortadas duas faces opostas de cada fruto no sector longitudinal, estes pedaços de fruto foram colocados num espremedor e extraído o sumo até perfazer 6 mL. O sumo é centrifugado durante 5 minutos a 4000 rotações à temperatura ambiente, Figura 10a.

Num copo colocou-se uma solução de 16 mL de água destilada e 4 mL de sumo. A esta solução adicionou-se, a partir de uma bureta graduada, uma solução de 0,1 N de hidróxido de sódio, até o potenciómetro (Hanna pH 213) marcar pH 8,1, como se observa na figura 10b. Registou-se a quantidade de base gasta.

O resultado é expresso em grama (g) de ácido málico / litro de sumo, este valor foi obtido através da expressão

$$\text{Acidez titulável (g/L)} = \text{NaOH} \times 0,67 \times 2,5$$

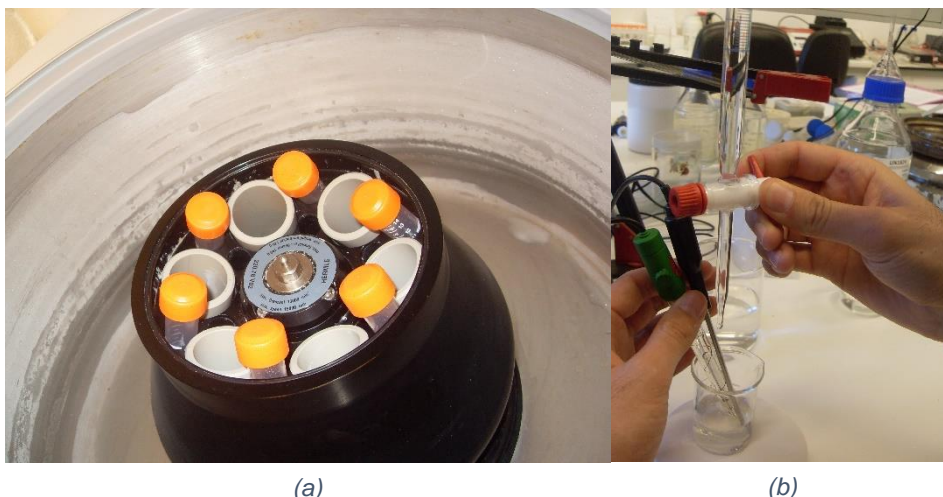


Figura 10 - Metodologia usada para determinar a acidez titulável. (a) Centrifugação do sumo. (b) Titulação com potenciômetro e termômetro.

3.3.9 Vitamina C

Para a determinação da vitamina C foi feita uma titulação com DCPIP (2,6-Diclorofenol-indofenol).

Para a titulação foi utilizada uma solução com 1500 μL de água desionizada com 500 μL de sumo dos frutos, à qual se adicionou DCPIP, tal como se observa na Figura 11.

Para a determinação do teor de vitamina C foi usada uma solução de ácido ascórbico em que a sua concentração era conhecida; neste caso de 0,29 mg, foi titulado com DCPIP e contabilizada a quantidade gasta. Desta forma, foi possível determinar a quantidade de vitamina C presente na solução através da comparação com a quantidade de vitamina C presente na solução de ácido ascórbico e o DCPIP gasto, posteriormente calculou-se a quantidade de vitamina C presente no sumo das peras.



Figura 11 – Metodologia utilizada para a determinação da vitamina C.

3.3.10 Fenóis

O teor de fenóis totais foi determinado através de análise espectral (Waterhouse, 2002), usando como padrão o ácido gálico.

Foi preparada uma solução com água desionizada com sumo dos frutos, à razão de 2850 μL para 150 μL , e colocada em cuvetes como é possível observar na Figura 12a.

A determinação dos fenóis foi feita espectrofotometricamente, usando o aparelho GeneQuant Pro RNA/DNA Calculator, como mostra a Figura 12b.

Os valores obtidos da absorvância (ABS) foram inseridos na curva de calibração previamente realizada.

Os resultados foram expressos em miligramas de ácido gálico por 100 mL de sumo dos frutos (mg/100 mL).

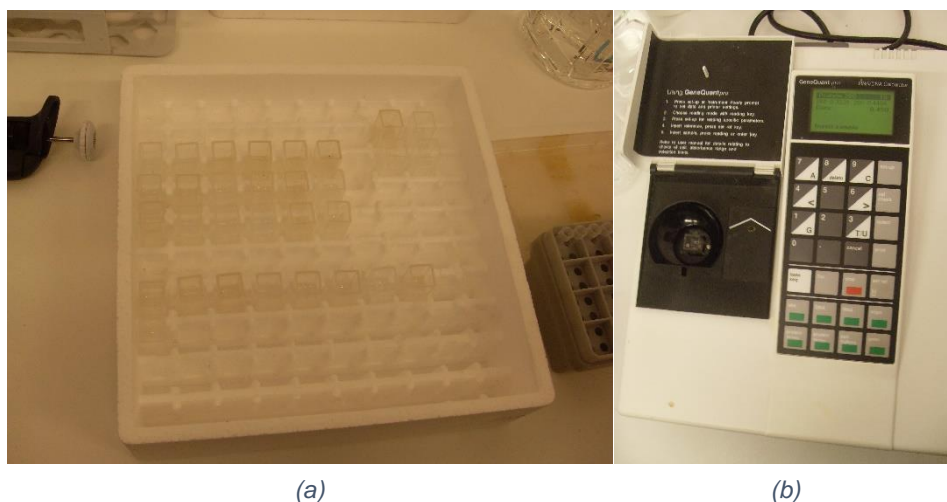


Figura 12 - Método utilizado para a determinação do teor de fenóis. a) Preparação das cuvets com sumo e água desionizada. b) Espectrofotômetro GeneQuant Pro RNA/DNA Calculator

3.3.11 Etileno

Para a medição do etileno foi utilizado um GC (Cromatógrafo de gás), como mostra na figura 13a. Foram também usados 4 a 5 frutos dependendo do seu tamanho, por forma a não haver grandes variações de peso entre as repetições, para o ensaio de campo foram feitas 4 repetições, para o ensaio de central foram 2. Os frutos foram colocados num frasco de vidro hermeticamente fechado (figura 13b), ao qual se retirou o gás com uma seringa e injetou no GC.

Os frutos para análise provenientes de conservação foram aclimatizados a 20 °C em câmara, como mostra a figura 13c.

A produção de etileno expressa em $\mu\text{L.Kg.h}^{-1}$, foi calculada através da equação:

$$\text{Produção de etileno} = \frac{(\text{Volume de vazão (L)} \times \text{Valor obtido de } C_2H_4 \text{ (ppm)})}{(\text{Massa dos frutos (Kg)} \div \text{Tempo de incubação (H)})}$$

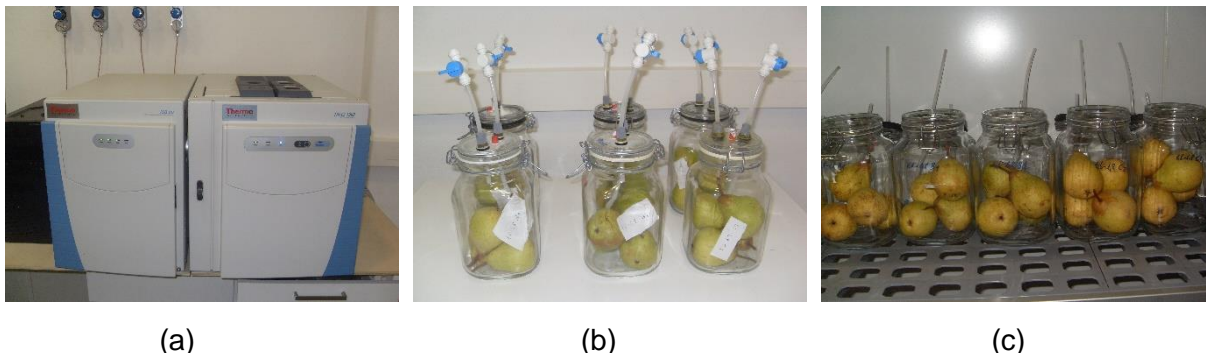


Figura 13 - Metodologia utilizada na medição do etileno. a) Cromatógrafo de gás Thermo Scientific ISQ com Trace 1300. b) Preparação das amostras em frascos fechados. c) Aclimatização das amostras.

3.3.12 Acastanhamento interno

Para avaliar o acastanhamento interno foram usados 130 frutos de cada classe de I_{AD} e pomar.

A avaliação foi feita através de observação visual, após corte longitudinal e equatorial dos frutos (Silva, 2006)

Segundo, Silva em 2006, os acastanhamentos internos foram classificados da seguinte forma: “0” – quando não se verifica qualquer acastanhamento da polpa; “1” – quando a alteração da polpa se apresenta com uma área inferior a uma circunferência com 5 mm de diâmetro; “2” – para uma área afetada com uma dimensão entre diâmetro de 5 mm e 10 mm; “3” – manchas com diâmetro entre 10 mm e 20 mm e “4” – acastanhamentos com diâmetro superior a 20 mm. Estes parâmetros estão resumidos e ilustrados na figura 14.

Após a conservação dos frutos em atmosfera normal e controlada dinâmica, além da percentagem de frutos afetados, foi determinado o índice de acastanhamento interno, para determinar este índice foi utilizada a fórmula de Silva (2006) baseada em Zerbini *et al.* (2002)

$$\text{Índice AI} = \frac{1 \cdot n_1 + 2 \cdot n_2 + 3 \cdot n_3 + 4 \cdot n_4}{4 \cdot n_{\text{Tot}}}$$

Onde n₁-n₄ são o número de frutos nas classes de severidade respectivas 1-4 e n_{Tot} é o número total de frutos na amostra. O índice varia entre “0” e “1”.


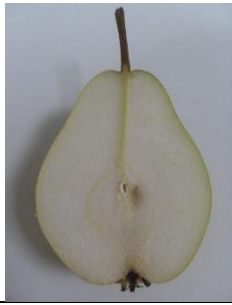

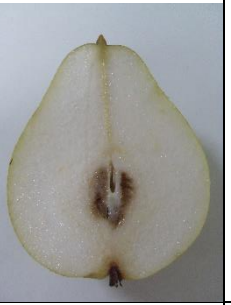
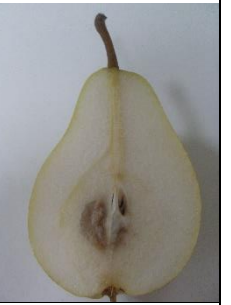
				
0 mm	<5 mm	5-10 mm	10-20 mm	>20 mm
0	1	2	3	4

Figura 14 - Classificação do acastanhamento

3.3.13 Escaldão

Segundo Silva (2006), no caso do escaldão, a severidade dos sintomas foi avaliada de acordo com a área de epiderme do fruto afetada pelas manchas castanhas. Assim, os frutos foram divididos visualmente em quartos no sentido longitudinal e por comparação com a área ocupada pela desordem a severidade classificou-se do seguinte modo: “0” – quando não se verificam manchas na epiderme dos frutos; “1” – quando o acastanhamento ocupa entre 0% e 25% da área do fruto, ou seja, menor que um quarto; “2” – quando a área da epiderme afetada corresponde a um intervalo entre 25% e 50% do fruto afetado, isto é superior à superfície de um quarto e inferior à superfície total de dois quartos e “3” – quando a face atingida for superior a dois quartos, ou seja, 50% da epiderme total do fruto. Estes parâmetros estão resumidos e ilustrados na figura 15.

Tal como para o acastanhamento interno, também para o escaldão superficial foi determinado o índice de escaldão superficial após a conservação em frio normal e atmosfera controlada dinâmica. A expressão usada foi a de Silva (2006) baseada em Wang e Dilley (2000):

$$\text{Índice ES} = \frac{1.n1 + 2.n2 + 3.n3}{4.nTot}$$

Onde n1-n3 são o número de frutos nas classes de severidade respetivas 1-3 e nTot é o número total de frutos na amostra. O índice varia entre “0” e “0,75”.





			
0 %	0-25 %	25-50%	>50 %
0	1	2	3

Figura 15 - Classificação do escaldão

3.5 Análise estatística

Os dados foram sujeitos a análise de variância a dois fatores, seguida pelo teste de separação de médias de Tukey ($P < 0,05$) quando a ANOVA revelou efeitos significativos. Quando os dados não cumpriam os requisitos da ANOVA foi efetuado o teste não paramétrico de Kruskal-Wallis. Recorreu-se ao programa Statistix 9.

4. Resultados e Discussão

4.1 Ensaio de campo

Neste ensaio de campo pretendeu-se correlacionar os parâmetros de qualidade com o I_{AD} de uma forma evolutiva, ou seja, os frutos foram colhidos em várias datas ao longo da maturação.

4.1.1 Caracterização dos frutos em diferentes datas de colheita

I_{AD}

O I_{AD} variou entre a primeira data de amostragem a 27 de Julho e a última a 9 de Setembro, de 2,0 a 0,8. Como se mostra na Figura 16, o I_{AD} mostrou uma tendência decrescente constante em todos os pomares, como seria expectável, pois este índice é inversamente proporcional à maturação (Ziosi *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2009). Entre pomares mostrou diferenças significativas em algumas datas, sendo o pomar Freiria o que teve valores maiores de I_{AD} e o pomar Tamuge o que possuiu valores significativamente mais baixos.

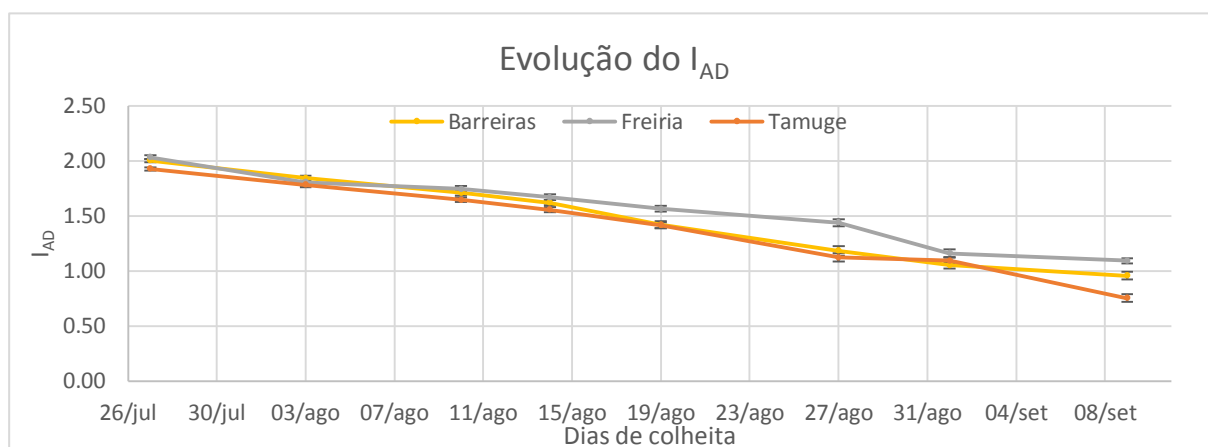


Figura 16 - Evolução do I_{AD} durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

Calibre e peso

O calibre variou entre 56 e 70 mm, o peso variou entre 102 e 187 g entre a primeira e a última data de colheita, no conjunto dos pomares. Como é possível observar na Figura 17, os valores de calibre não mostram grandes diferenças entre os pomares, evidenciam apenas algumas diferenças na taxa de crescimento possivelmente explicadas pelos fatores de pré-colheita, como regas e condições climáticas durante o crescimento, pois o calibre é referenciado como um parâmetro muito sensível aos fatores de pré-colheita (Crisosto, 1994).

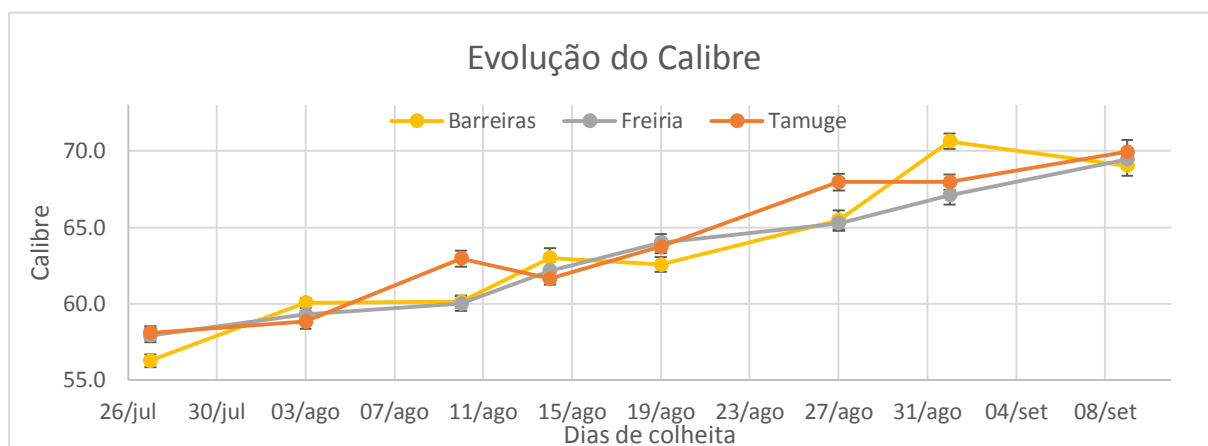


Figura 17 - Evolução do calibre em mm durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão

Os desvios padrão são muito pequenos, o que seria expectável, pois na recolha da amostra um dos objetivos era não haver essas diferenças entre frutos, sendo colhidos apenas os frutos mais representativos da média de cada pomar. O calibre dos frutos influencia alguns índices de maturação, como é o caso da dureza, frutos com maior calibre têm menor dureza (Bramlage, 1983; Dobrzanski *et al.*, 2006).

Nas Figuras 17 e 18 é possível observar que a evolução do calibre é muito idêntica à evolução do peso, estando estas características correlacionadas. Ambos mostraram uma tendência crescente ao longo do tempo, pois com o avançar da maturação os frutos tendem a aumentar o tamanho e o peso (Ahmad e Siddiqui, 2015).

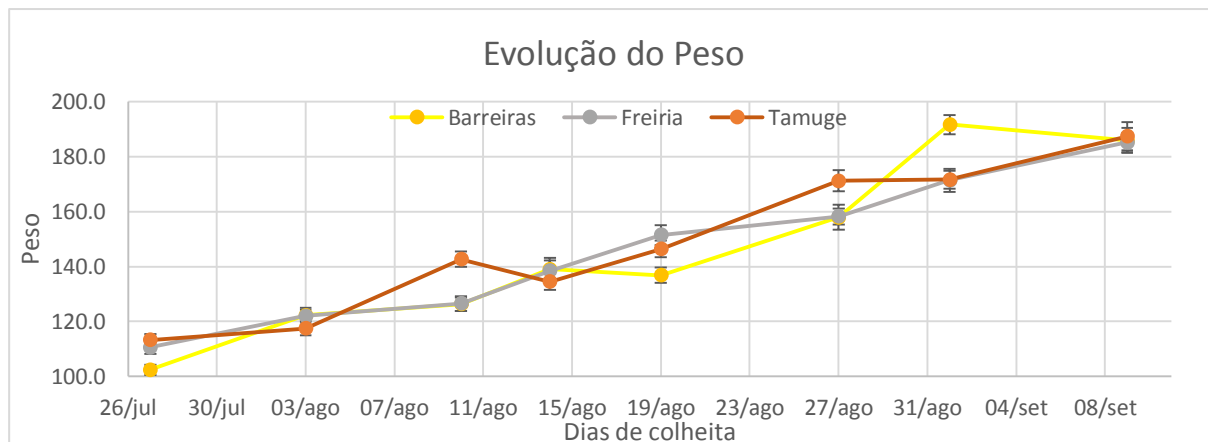


Figura 18 - Evolução do peso em gramas durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

Na regressão linear do I_{AD} com o peso e calibre foi obtido um $r = 0,45$ para ambos os parâmetros. Este valor revela que existe uma relação entre o I_{AD} com o calibre e peso.

Nestas condições de amostragem, o calibre revelou ser um parâmetro interessante para avaliar a maturação, como já havia sido referido por Alexandre (2001) e também muito utilizado pelos produtores de pera 'Rocha'. Contudo, pode ser falível, pois existiam frutos mais pequenos e também maiores na amostra que não evidenciavam estar menos ou mais maduros, respetivamente. Esta fragilidade apresentada por este parâmetro já tinha sido referida por Tvergyak (1985) relativo a frutos provenientes de florações tardias permanecerem pequenos na colheita, mas que poderiam estar maduros. A pereira 'Rocha' é uma cultivar que

tradicionalmente possui flores escalonadas no tempo, agravado em anos com poucas horas de frio (Alexandre, 2001). Contudo, o calibre continua a ser um dos principais parâmetros de qualidade de pera 'Rocha'.

Cor

A cor, como é possível observar na figura 19, mostra uma tendência decrescente muito semelhante à evolução do I_{AD} . Esta semelhança era expectável, pois o I_{AD} depende do teor de clorofila nos frutos, o mesmo acontece com a cor na pera 'Rocha' em que a tonalidade verde se deve também à clorofila (Alexandre, 2001). O decréscimo mostrado na figura 19, de um máximo de 119° para 107° , espelha a passagem de verde para amarelo, característico da pera 'Rocha' (Alexandre, 2001).

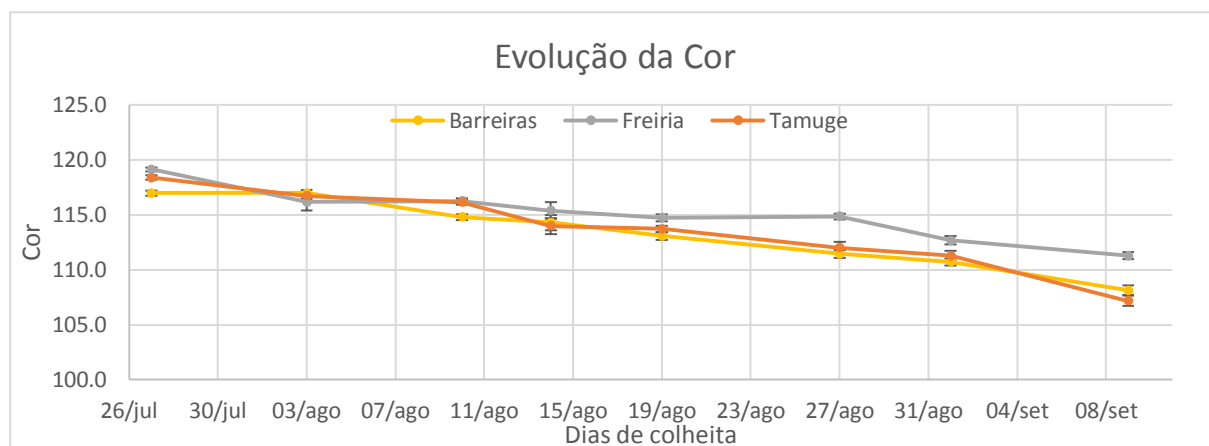


Figura 19 - Evolução da cor em $^\circ\text{Hue}$ durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

Entre os pomares, nas últimas colheitas o pomar Freiria mostra-se estatisticamente mais verde que os pomares Barreiras e Tamuge.

Apesar das semelhanças na evolução a relação entre o I_{AD} e a cor foi de $r = 0,57$.

Firmeza

A firmeza é o parâmetro mais utilizado para avaliar a maturação em pera 'Rocha' (Alexandre, 2001). Durante a evolução ao longo da colheita os valores variaram entre 7,9 e $3,0 \text{ kg } 0,5\text{cm}^{-2}$.

Ao observar a Figura 20, as diferenças entre pomares são notórias, com exceção das duas primeiras datas de colheitas e as duas últimas, em que apenas o pomar Tamuge apresenta durezas significativamente mais baixas, nas restantes datas de colheita as durezas de cada pomar diferem estatisticamente entre si, sendo o pomar Freiria o que apresenta valores de dureza mais altos e o Tamuge mais baixos. Estas diferenças entre pomares eram expectáveis, pois tratam-se de pomares que geograficamente se situam em regiões distintas e que historicamente têm datas de colheita diferentes. Estas diferenças de maturação não foram demonstradas com o calibre, o que mais uma vez, o torna num índice de maturação falível.

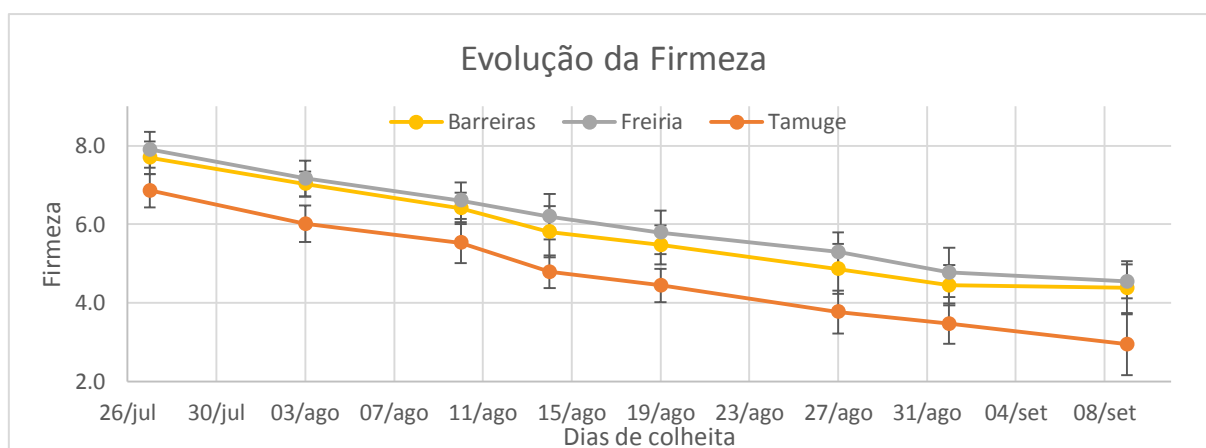


Figura 20 - Evolução da firmeza em kg/0,5cm² durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

O decréscimo constante da firmeza ao longo do tempo, mostrado pela Figura 20, está de acordo com o referido pelos autores Alexandre, (2001) e Ahmad e Siddiqui (2015), pois há uma redução da firmeza dos frutos com o avançar da maturação, resultado da hidrólise das protopectinas. Estes resultados confirmam que a firmeza é um bom índice de maturação para pera 'Rocha'.

A relação entre o I_{AD} e a firmeza foi de $r = 0,74$, fazendo do I_{AD} um interessante índice de maturação. Correlações entre o I_{AD} e a firmeza foram obtidas por Ziosi *et al.* (2008) em pêssegos e nectarinas, por Infante *et al.* (2011) em ameixas e Nyasordzi *et al.* (2013) em maçãs.

Teor em sólidos solúveis

Para o teor em sólidos solúveis foram obtidos valores de 10,5 % brix na primeira data de colheita e de 15,6% brix na última data de colheita. Contudo, como é possível observar na Figura 21, o teor em sólidos solúveis em cada pomar sofre um ligeiro aumento ao longo da maturação, este aumento ao longo da maturação foi também referido por Alexandre, (2001) e Dobrzanski *et al.* (2006). Se fixarmos o pomar Tamuge, este na primeira data de colheita possui 14,3% brix e na última data 15,6% brix, variando apenas 1,3% brix em 45 dias o que faz deste índice pouco sensível à evolução da maturação. Outro ponto a reter é, por exemplo, o facto de em data nenhuma o pomar Barreiras superar o teor em sólidos solúveis do pomar Tamuge, ou seja, peras sobre maduras do pomar Barreiras nunca superaram o teor em sólidos solúveis de peras imaturas do pomar Tamuge, mostrando que este índice é um pobre indicador de maturação, também constatado por Tvergyak (1985). Este índice revelou-se muito variável consoante o pomar.

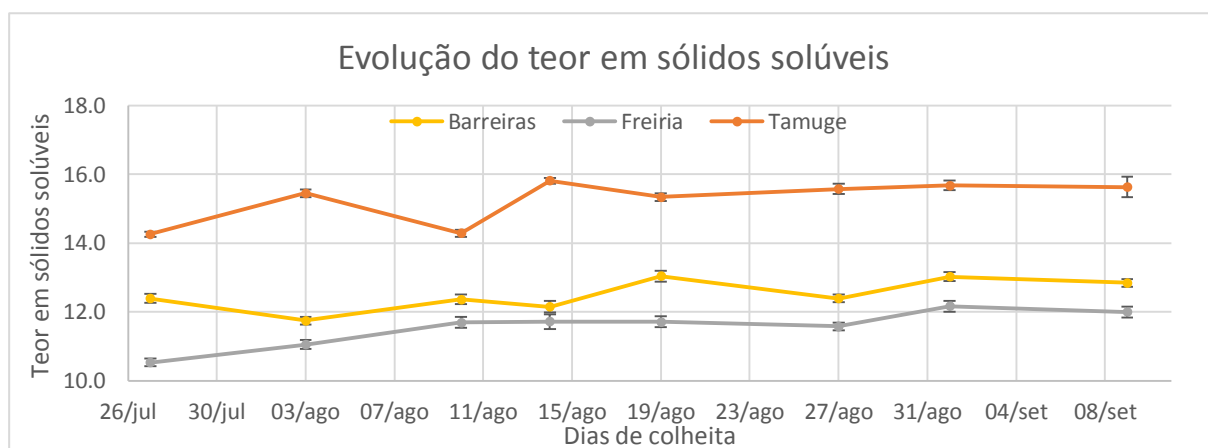


Figura 21 - Evolução do teor em sólidos solúveis em % Brix durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

O I_{AD} não se relacionou com o teor em sólidos solúveis, obtendo um $r = 0,1$.

Amido

Os valores de amido entre a primeira e a última data de colheita variaram entre 4 e 9, tendo em conta que o valor 4 significa frutos com mais amido que 9, sugerindo que ao longo do tempo há uma degradação do amido, como é observável na Figura 22. Estes resultados são suportados pelo facto de que com o avançar da maturação o amido é hidrolisado em açúcares solúveis (Alexandre, 2001).

Na figura 22, entre as duas primeiras colheitas e entre as duas últimas a taxa de regressão do amido é mais baixa que durante as restantes, isto sugere que no início das colheitas os frutos ainda se encontravam muito no início do processo de maturação, os das últimas colheitas porque o teor em amido era já reduzido ou não existia, levando também a uma aproximação dos valores entre os pomares. É também notório que o pomar Freiria é o que possui teores de amido mais elevados ao longo do tempo, pode ser explicado pelo facto de ser o pomar com a maturação mais atrasada, tal como mostrado durante a evolução da firmeza. Tendo isto em conta, a taxa de regressão do amido mostrou ser um índice interessante para avaliar a maturação em pera 'Rocha', tal como, havia sido referido por Alexandre (2001).

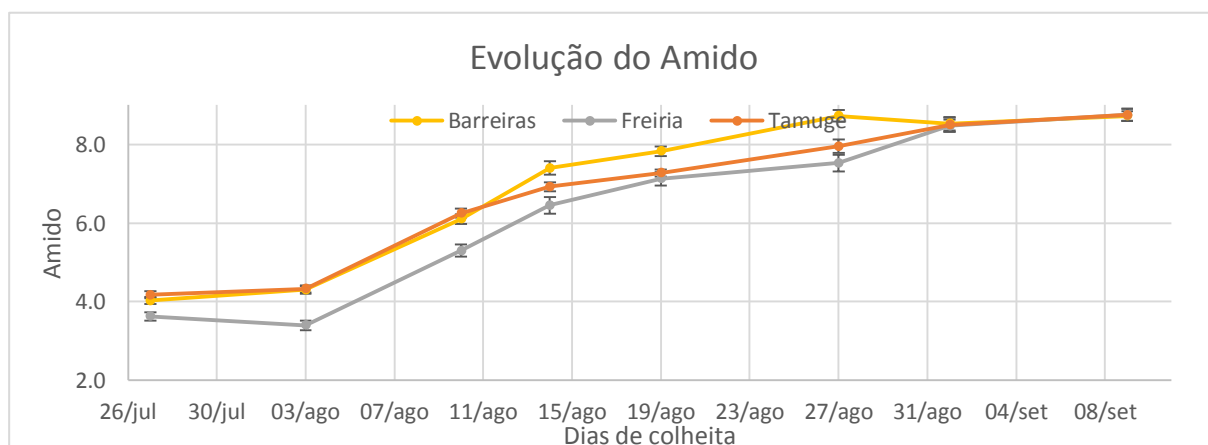


Figura 22 - Evolução do amido durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

A relação entre o I_{AD} e o amido foi de $r = 0,58$, revelando mais uma vez que o I_{AD} pode ser uma ferramenta interessante para a avaliação da maturação. Valores semelhantes a estes foram obtidos por Nyasordzi *et al.* (2013) em maçã.

Acidez

A acidez variou entre $3,6 \text{ gL}^{-1}$ na primeira data de colheita e $1,2 \text{ gL}^{-1}$ na última data de colheita, estando estes valores enquadrados com o que é referido por Alexandre (2001) para pera 'Rocha'.

Como é possível observar na Figura 23, apesar de um decréscimo mais abrupto da segunda colheita para a terceira nos pomares Freiria e Tamuge, a acidez decresce de forma constante ao longo da maturação, tal como, é referido por Dobrzanski *et al.* (2006) e Ahmad e Siddiqui (2015). Contudo é também observável que o pomar Tamuge é o que apresenta valores de acidez significativamente superiores aos outros pomares, mas esse não era o pomar com a maturação mais atrasada, como foi mostrado na evolução da firmeza. Estes valores mostram que a acidez é um índice próprio de cada pomar, ou seja, não se pode avaliar a maturação pelo valor numérico, mas sim para a tendência do decréscimo de ácido málico nos frutos, mostrando a taxa de evolução da maturação.

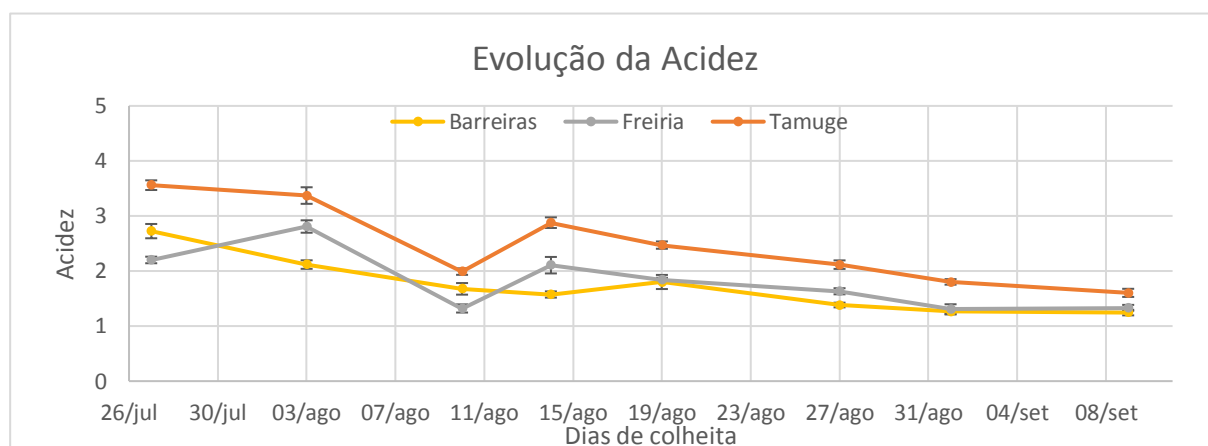


Figura 23 - Evolução da acidez em g de ácido málico / L de ácido málico durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

A relação entre o I_{AD} e a acidez foi de $r = 0,32$. Este valor mostra uma fraca relação entre os parâmetros, contudo Nyasordzi *et al.* (2013) em maçã também não obteve uma correlação expressiva entre a acidez e o I_{AD} .

Vitamina C

A vitamina C não está referenciada como um parâmetro de maturação, contudo neste trabalho foi monitorizada a sua evolução ao longo da maturação. Como mostra a Figura 24, o teor em vitamina C tende a aumentar até certo ponto e depois decresce, ou seja, este parâmetro mostra uma tendência que não permite determinar a maturação, como seria expectável. Os valores de vitamina C variam entre um máximo de $23,5 \text{ mg}$ de ácido ascórbico/ 100 mL de sumo na colheita de 14 de Agosto e um mínimo de $7,7 \text{ mg}$ de ácido ascórbico/ 100 mL de sumo a 9 de Setembro.

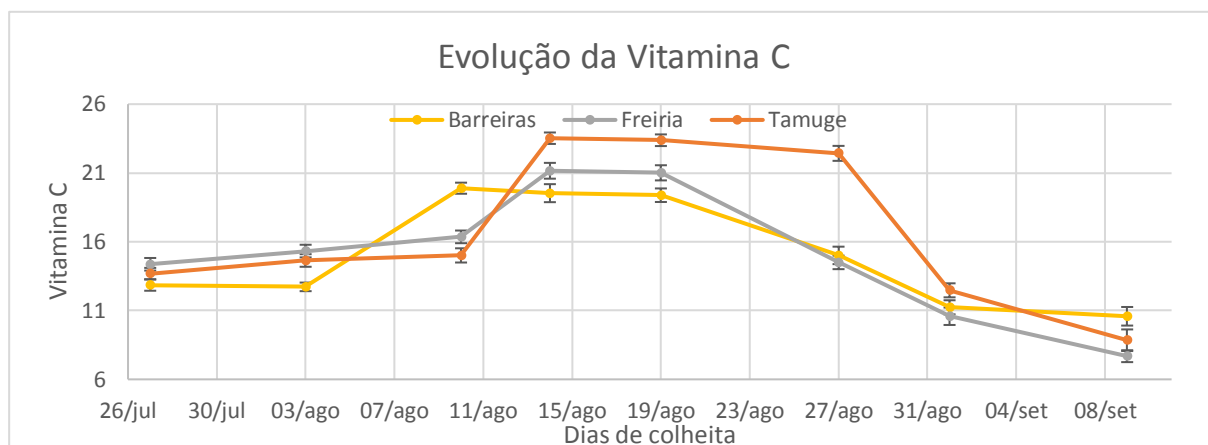


Figura 24 - Evolução da vitamina C, expressa em mg de ácido ascórbico/100 mL de sumo, durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

Como seria expectável, não existe uma relação entre o I_{AD} e o teor em vitamina C, tendo-se obtido um $r = 0,08$.

Contudo a vitamina C está referenciada como um importante antioxidante natural dos frutos (Frank *et al.*, 2007), atendendo ao pico de ácido ascórbico existente ao longo da maturação, este momento pode representar um maior nível de capacidade antioxidante dos frutos e posteriormente um maior potencial de conservação. No entanto, vários autores sugerem que durante a conservação há uma perda progressiva do ácido ascórbico (Davey *et al.*, 2004; Felicetti *et al.*, 2010).

Fenóis

O teor em fenóis, tal como a vitamina C, não é apontado como um índice de maturação, contudo neste trabalho foi também seguido ao longo da maturação. De acordo com a Figura 25, a tendência dos fenóis é o inverso da vitamina C, ou seja, no início há um decréscimo e depois um ligeiro aumento, como espectável não se revelando um bom parâmetro para avaliar a maturação. Foi obtido um valor máximo de compostos fenólicos de 62,1 mg de ácido gálico/100mL de sumo na primeira colheita a 27 de Julho e um valor mínimo 21,8 mg de ácido gálico/100mL de sumo no dia 19 de Agosto, correspondente à 5ª data de colheita.

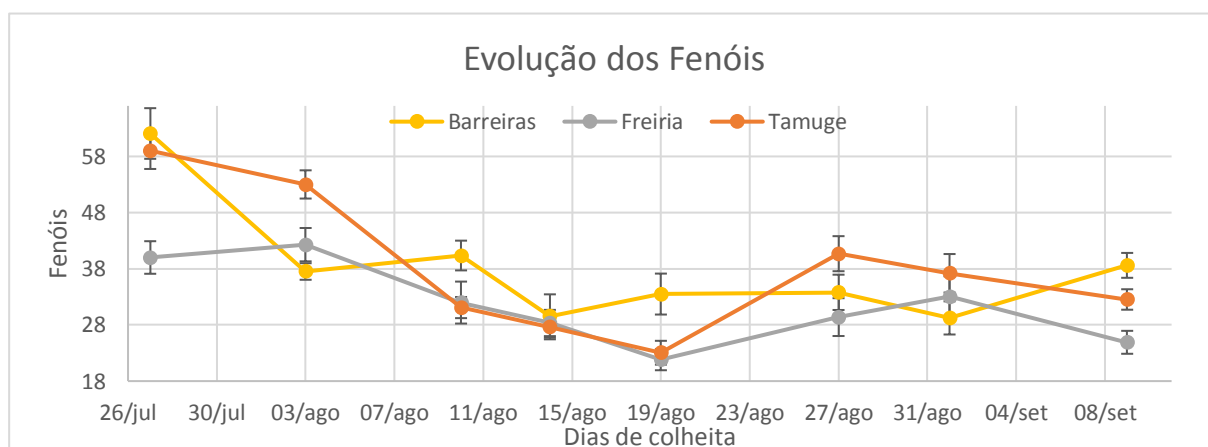


Figura 25 - Evolução dos fenóis expressos em mg de ácido gálico/100mL de sumo durante a maturação. Cada ponto representa 40 frutos. As barras correspondem ao desvio padrão.

Relativamente à relação entre o I_{AD} e os fenóis, foi inexistente, com um $r = 0,1$. Estes valores estão de acordo com o esperado, pois o I_{AD} está referenciado como um parâmetro de maturação. Compostos fenólicos têm atividade antioxidantes e podem contribuir para uma maior resistência ao escaldão superficial, mas como há oxidação dos fenóis via PPO mais provavelmente contribuem para o desenvolvimento de escaldão superficial (Lurie e Watkins, 2012).

Etileno

Durante a monitorização da taxa de produção de etileno ao longo das 8 datas de colheita, só a partir a 5ª data, ou seja, dia 19 de Agosto uma das amostras do pomar Tamuge mostrou produção de etileno. No global dos 3 pomares só na 6ª data de colheita, a 27 de Agosto é que os pomares mostraram produção de etileno. O etileno é a hormona com o papel mais importante na vida útil das plantas. O etileno influencia diretamente o amadurecimento dos frutos (Lin *et al.*, 2009), fazendo deste o parâmetro mais direto para avaliar o estado de maturação dos frutos.

Em análise à Figura 26, é notório que os três pomares apresentam taxas de produção de etileno diferentes, em que o pomar Tamuge é o que apresenta taxas de produção de etileno mais elevadas e o pomar Freiria o que tem mais baixas, isto mostra que o pomar Tamuge era o mais avançado na maturação, seguido do Barreiras e o menos avançado seria a Freiria. Estas diferenças de maturação entre pomares já tinham sido mostradas na evolução da firmeza, esta relação entre a firmeza e o etileno já tinha sido comprovada por Hiwasa *et al.* (2003), pois afirma que o etileno não é meramente um subproduto, mas desempenha um papel crucial tanto na iniciação como na manutenção da regulação do processo de perda de firmeza durante o amadurecimento.

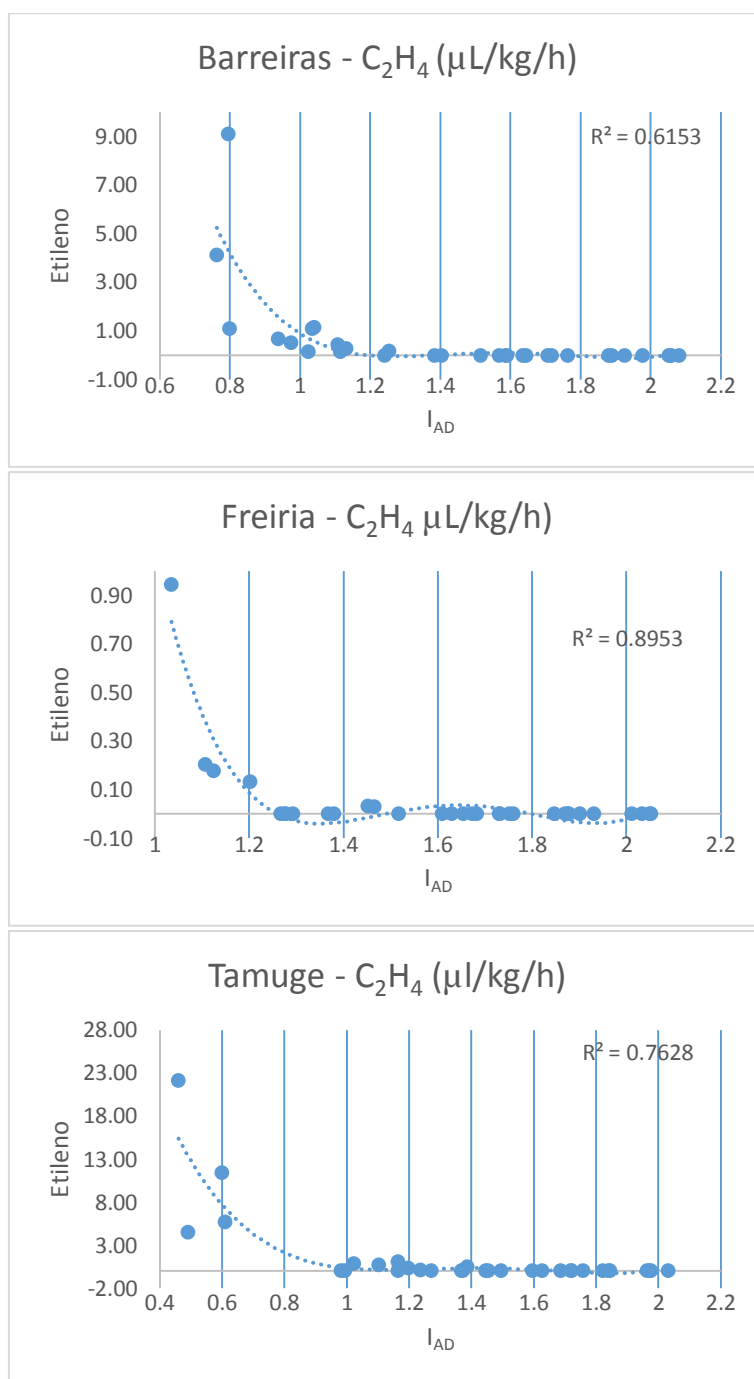


Figura 26 - Relação entre o I_{AD} e a taxa de produção de etileno ($\mu\text{L/kg/h}$) para os 3 pomares em estudo. Cada ponto representa uma amostra de 4 frutos.

A relação média, dos três pomares, entre o I_{AD} e a taxa de produção de etileno foi de $R^2=0,76$. Correlação entre o I_{AD} e o etileno foram também obtidas em prunóideas por Ziosi *et al.* (2008) e por Toivonen e Hampson (2014) em maçãs de $R^2 = 0,67$, $P < 0.05$.

Índice de Streif

Com os valores de firmeza, sólidos solúveis e amido obtidos durante a monitorização da maturação, foi também calculado o índice de Streif. A relação entre este índice e o I_{AD} é

mostrado na Figura 27, foi obtido um $r = 0,67$ mostrando uma boa relação entre o índice de Streif e o I_{AD} .

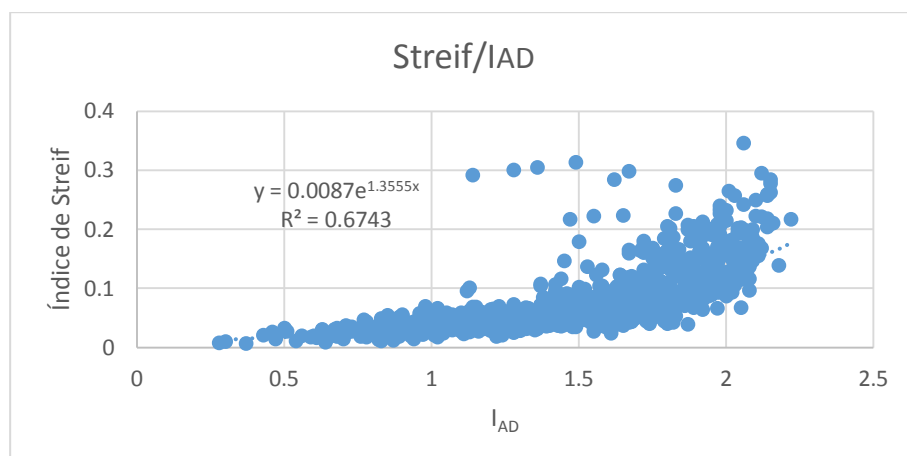


Figura 27 - Relação entre o índice de Streif e o I_{AD} . Cada ponto representa 40 frutos.

4.1.2 Caracterização dos frutos à colheita

No dia 14 de Agosto procedeu-se à colheita dos frutos para o ensaio de conservação, a sua caracterização segundo diversos parâmetros de qualidade é mostrada nos quadros 15 e 16.

No quadro 15, relativamente ao peso, diâmetro e cor não são evidenciadas diferenças estatísticas entre os pomares, como seria expectável, pois a amostra foi colhida da forma o mais homogénea possível. O I_{AD} mostra diferenças significativas entre o pomar Freiria e Tamuge, sendo o pomar Tamuge o mais avançado na maturação, Freiria o mais atrasado e o Barreiras o intermédio. Estas diferenças de maturação são comprovadas à colheita com diferenças significativas entre ambos para o parâmetro firmeza.

Para o parâmetro teor em sólidos solúveis, o pomar Tamuge é significativamente o que apresenta o valor mais alto dos três (Quadro 7), contudo como foi mostrado durante a evolução do teor em sólidos solúveis, este índice é muito intrínseco de cada pomar e um pobre preditor de maturação. O amido apresentou diferenças significativas à colheita entre os pomares Barreiras e Freiria, atendendo que o pomar Barreiras é o que tem um maior teor em amido.

Quadro 7 – Caracterização dos frutos colhidos a 14-08-2015, parâmetros quantificados: peso, diâmetro, I_{AD} , cor, firmeza, °brix e amido. Estes valores representam médias de 40 frutos. As letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey para $\alpha=0,05$.

Pomar	Peso (g)	Diâmetro (mm)	I_{AD}	Cor (°Hue)	Firmeza (kg/ 0,5 cm ²)	TSS °Brix	Amido
Barreiras	139,1	63,0	1,62 AB	114,3	5,8 B	12,2 B	7,4 A
Freiria	138,5	62,2	1,67 A	115,4	6,2 A	11,7 B	6,5 B
Tamuge	134,5	61,7	1,55 B	114,0	4,8 C	15,8 A	6,9 AB

No Quadro 8, estão espelhados os parâmetros que implicam uma análise laboratorial mais complexa. Relativamente aos fenóis, não existem diferenças significativas entre eles.

Nesta data de colheita, os 3 pomares não apresentaram produção de etileno, contudo como foi observado, os valores de etileno de datas posteriores mostraram diferenças entre os pomares. A acidez revela teores de ácido málico nos frutos diferentes entre os três pomares, sendo Tamuge o pomar com maior teor e Barreiras com menor. Para a vitamina C apenas foram significativamente diferentes os pomares Barreiras e Tamuge.

Quadro 8 - Caracterização dos frutos colhidos a 14-08-2015, parâmetros quantificados: acidez, vitamina C e fenóis. Estes valores representam médias de 40 frutos, exceto o etileno que são médias de 20 frutos. As letras diferentes representam valores estatisticamente diferentes de acordo com o teste de Tukey para $\alpha=0,05$

Pomar	Acidez (ácido málico g/L)	Vitamina C (mg ácido ascórbico/100 mL)	Fenóis (mg/100 mL)
Barreiras	1,6 C	19,5 B	29,6
Freiria	2,1 B	21,2 AB	28,3
Tamuge	2,9 A	23,5 A	27,6

É importante reter que os pomares têm diferentes níveis de maturação. O pomar Tamuge possui significativamente um teor em sólidos solúveis e ácido málico superior aos outros, também o pomar Barreiras possui um teor de amido significativamente superior, atendendo que ambos os três pomares têm calibres e pesos idênticos, revelam que o pomar Tamuge e Barreiras são pomares com um nível de reservas maior e posteriormente possuirão uma maior carga energética. Uma maior carga energética leva a um aumento de energia disponível para a regeneração celular e manutenção (Veltman *et al.*, 1999a; Chevrin *et al.*, 1996), podendo indicar à partida um potencial de conservação diferente entre os pomares. Salientando o possível maior potencial de conservação destes dois pomares, é de referir que são provenientes de solos de textura mais fina que o pomar Freiria, sendo este também um fator referido por Almeida (2017).

4.2 Ensaio de central

Após a colheita a 14 de Agosto os frutos dos 3 pomares foram segregados em lotes consoante a classe de I_{AD} e conservados em atmosfera de frio normal e atmosfera controlada dinâmica. Neste ensaio de central é então pretendido caracterizar estes lotes após a conservação segundo diversos parâmetros de qualidade e, posteriormente, a sensibilidade à ocorrência de desordens fisiológicas.

4.2.1 Caracterização dos frutos conservados em atmosfera normal

Após a conservação em atmosfera normal, os frutos do pomar Barreiras para os parâmetros peso, calibre e %brix não mostraram diferenças significativas entre as diferentes classes de I_{AD} (Quadro 9). Para estes parâmetros, após 5 dias de tempo de prateleira, apenas o peso dos frutos diminuiu significativamente, sendo explicada a variação pela desidratação. Relativamente à cor existem diferenças significativas entre as classes, em que a classe 3 é a mais verde e a classe 1 a mais amarela, o que seria expectável, pois como já foi discutido tanto o I_{AD} como a cor são ambos parâmetros dependentes da clorofila. Também entre a saída da câmara e passados 5 dias, houve diferenças significativas para o parâmetro cor, pois após a saída da câmara os frutos tendem a evoluir inclusive a cor.

Para a vitamina C também se registam diferenças significativas entre as classes, em que a classe 1 possui o maior teor de ácido ascórbico e a classe 3 o menor, possivelmente estas diferenças se devem ao facto de o teor em ácido ascórbico aumentar ao longo da maturação até certo ponto. Durante o tempo de prateleira a vitamina C também decresceu significativamente. Os fenóis apenas mostraram diferença estatística entre as classes 1 e 3, em que a classe 1 possuem um maior teor em ácido gálico.

Quadro 9 - Pomar A - Barreiras - Variáveis sem interação (Classe de I_{AD} *TP>0,05)

	Peso	Calibre	Brix	Cor	Vitamina C	Fenóis
	g	mm	%	hue °	mg/100 mL	mg/100 mL
Classe de I_{AD}						
1 (1,4-1,6)	128,4	60,9	13,4	95,7 C	5,4 A	43,8 A
2 (1,6-1,8)	131,6	61,1	13,4	99,3 B	4,0 B	42,0 AB
3 (1,8-2,0)	131,9	61,1	12,9	101,3 A	2,8 C	35,1 B
SEM	2,56	0,41	0,17	0,38	0,21	2,08
TP						
A – 0 dias	133,6 A	61,1	13,1	100,3 A	4,9 A	38,1
B – 5 dias	127,7 B	60,9	13,4	97,2 B	3,3 B	42,5
SEM	2,09	0,34	0,14	0,31	0,17	1,70
Prob F						
Classe de I_{AD}	0,566	0,882	0,104	<0,001	<0,001	0,017
TP	0,045	0,661	0,257	<0,001	<0,001	0,077

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira, TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

No Quadro 10, é possível observar que para a firmeza existem diferenças significativas entre as classes 3 e 1, como expectável a classe 3 é a que apresenta valores de firmeza mais elevados. Após o tempo de prateleira não existe diferenças significativas entre as classes, o que sugere que a classe 3 apesar de apresentar maior firmeza à saída da câmara evolui mais depressa que os frutos das outras classes. Esta maior evolução por parte da classe 3 foi também notória para o I_{AD} e para a acidez, sugerindo que os frutos menos maduros tendem a amadurecer mais depressa que os frutos mais maduros, após conservação em atmosfera normal. O I_{AD} evidenciou diferenças significativas entre as classes, como seria expectável, já no parâmetro acidez isso não aconteceu.

Quadro 10 - Pomar A - Barreiras - Variáveis com interação (Classe $I_{AD} \cdot TP < 0,05$)

Classe de I_{AD}	TP (dias)	Firmeza (kg 0,5cm ⁻²)		I_{AD}		Acidez g L ⁻¹	
1 (1,4-1,6)	A – 0	5,0	B	0,3	C	1,4	AB
	B – 5	4,1	C	0,2	C	1,4	AB
2 (1,6-1,8)	A – 0	5,1	AB	0,5	B	1,5	AB
	B – 5	4,0	C	0,5	B	1,4	AB
3 (1,8-2,0)	A – 0	5,4	A	0,7	A	1,6	A
	B – 5	4,0	C	0,6	B	1,2	B
SEM		0,07		0,03		0,06	
Prob F							
Classe de I_{AD}		0,314		<0,001		0,741	
TP		<0,001		0,004		0,012	
Interação		0,004		0,028		0,017	

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após a saída da câmara).

Relativamente ao pomar Freiria, como mostra o Quadro 11, os frutos não registaram diferenças, tanto entre as classes de I_{AD} como para o tempo de prateleira, para os parâmetros peso e calibre. Contrariamente com o que aconteceu no pomar Barreiras em que para o peso houve decréscimo passados 5 dias de tempo de prateleira, no pomar Freiria não existia indícios de desidratação. Para o parâmetro cor, o pomar Freiria teve um comportamento idêntico ao Barreiras.

O pomar Freiria relativamente ao I_{AD} evidenciou diferenças significativas entre as classes e tempo de prateleira, como seria expectável, pois os lotes de frutos foram segregados consoante classes de I_{AD} e após conservação mantiveram essas diferenças, para o tempo de prateleira; este novo parâmetro revelou-se sensível à evolução da maturação após a conservação. Para a acidez, apenas a classe 1 divergiu significativamente, tendo maior teor em ácido málico, já após os 5 dias de tempo de prateleira o teor em ácido málico decresceu significativamente, como esperado. Na vitamina C, também, foi a classe 1 que apresentou significativamente um maior teor em ácido ascórbico, contudo após o tempo de prateleira o seu teor aumentou, apesar do aumento verificado 5 dias após o tempo de prateleira, dado que amostra não é a mesma, pode dever-se à amostragem.

Quadro 11 - Pomar B - Freiria - Variáveis sem interação (Classe de $I_{AD} \cdot TP > 0,05$)

	Peso g	Calibre mm	I_{AD}	Cor Hue °	Acidez g/L ⁻¹	Vitamina C mg/100 mL
Classes de I_{AD}						
1 (1.4-1.6)	140,7	62,4	0,4 C	98,2 C	1,4 A	9,1 A
2 (1.6-1.8)	134,2	61,2	0,6 B	102,1 B	1,0 B	3,7 B
3 (1.8-2.0)	137,8	62,3	0,9 A	105,4 A	1,1 B	3,1 B
SEM	2,92	0,46	0,02	0,39	0,04	0,19
TP						
A – 0 dias	137,9	61,9	0,7 A	102,9 A	1,3 A	4,6 B
B – 5 dias	137,2	62,0	0,6 B	100,9 B	1,1 B	6,0 A
SEM	2,38	0,37	0,01	0,32	0,04	0,16
Prob F						
Classe de I_{AD}	0,296	0,138	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
TP	0,844	0,882	0,005	<0,001	<0,001	<0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira, TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

O pomar Freiria para o parâmetro firmeza mostrou diferenças significativas à saída da câmara entre todas as classes, o que não tinha acontecido no pomar Barreiras. A classe 1 apresenta valores significativamente mais baixos e a classe 3 a com mais elevados, sendo a classe 2 a intermédia (Quadro 12). Após 5 dias de tempo de prateleira todas as classes diminuíram significativamente os valores da firmeza, expectável devido à evolução dos frutos à temperatura ambiente. Para o %brix apenas houve diferenças significativas entre as classes de I_{AD} à saída da câmara em que a classe 1 é a que apresenta valores de brix mais elevados e a classe 3 mais baixos, como esperado. Os fenóis, bem como no pomar Barreiras, não mostraram diferenças significativas após os 5 dias de tempo de prateleira e entre as classes à saída da câmara apenas a classe 1 se mostrou significativamente superior.

Quadro 12 - Pomar B – Freiria - Variáveis com interação (Classe $I_{AD} \cdot TP < 0,05$)

Classe de I_{AD}	TP (dias)	Firmeza kg 0,5 cm ⁻²	Brix %	Fenóis mg/100 mL
1 (1.4-1.6)	A - 0	5,2 C	12,6 A	41,0 A
	B - 5	4,1 D	12,2 A	33,1 AB
2 (1.6-1.8)	A - 0	5,5 B	10,6 B	28,9 BC
	B - 5	5,1 C	10,7 B	26,4 BC
3 (1.8-2.0)	A - 0	5,8 A	10,1 C	21,8 C
	B - 5	5,4 B	10,3 BC	26,2 BC
SEM		0,06	0,11	1,85
Prob F				
Classe de I_{AD}		<0,001	<0,001	<0,001
TP		<0,001	0,760	0,198
Interação		<0,001	0,049	0,010

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após a saída da câmara).

Para o pomar Tamuge, como mostra o Quadro 13, os parâmetros peso e calibre tiveram um comportamento igual ao pomar Freiria, não evidenciando diferenças significativas entre as classes e tempo de prateleira. Já os parâmetros I_{AD} e cor tiveram um comportamento igual ao pomar Freiria, mas demonstraram diferenças significativas entre as classes de I_{AD} e tempo de prateleira.

Para a firmeza, semelhante ao que aconteceu no pomar Barreiras não foram evidenciadas diferenças significativas entre todas as classes, apenas a classe 3 se destacou por estar significativamente mais firme. Após os 5 dias de tempo de prateleira a firmeza decaiu significativamente, tal como aconteceu nos pomares Barreiras e Freiria.

Quadro 13 -- Pomar C - Tamuge - Variáveis sem interação (Classe de I_{AD} *TP>0,05)

	Peso g	Calibre mm	I_{AD}	Cor Hue°	Firmeza kg 0,5 cm ⁻²
Classe de I_{AD}					
1 (1.4-1.6)	134,8	62,3	0,1 C	93,7 C	4,2 B
2 (1.6-1.8)	141,9	63,4	0,2 B	96,9 B	4,3 B
3 (1.8-2.0)	142,4	62,5	0,4 A	98,3 A	4,5 A
SEM	2,90	0,50	0,01	0,35	0,04
TP					
A – 0 dias	141,6	63,0	0,3 A	97,2 A	4,7 A
B – 5 dias	137,8	62,4	0,2 B	95,3 B	3,9 B
SEM	2,37	0,41	0,01	0,29	0,03
Prob F					
Classe de I_{AD}	0,122	0,297	<0,001	<0,001	<0,001
TP	0,252	0,299	<0,001	<0,001	<0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira, TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

No Quadro 14, no parâmetro brix é possível observar que apenas a classe 1 mostrou um valor significativamente superior às outras duas classes, mas não havendo diferenças entre a saída da câmara e passados 5 dias de tempo de prateleira.

Para a acidez, vitamina C e fenóis, entre as classes apenas a 1 se destacou significativamente, por possuir valores maiores dos três parâmetros, não havendo diferenças entre as classes 2 e 3. Após 5 dias de tempo de prateleira a acidez e a vitamina c decresceram significativamente, já os fenóis aumentaram.

Quadro 14 - Pomar C - Tamuge - Variáveis sem interação (Classe de I_{AD} *TP>0,05)

	Brix %	Acidez g ^L ⁻¹	Vitamina C mg/100 mL	Fenóis mg/100 mL
Classe de I_{AD}				
1 (1.4-1.6)	15,9 A	1,8 A	10,4 A	55,7 A
2 (1.6-1.8)	14,8 B	1,5 B	7,7 B	46,7 B
3 (1.8-2.0)	14,6 B	1,5 B	7,2 B	45,6 B
SEM	0,13	0,04	0,32	1,99
TP				
A – 0 dias	15,0	1,8 A	11,4 A	45,4 B
B – 5 dias	15,2	1,4 B	5,5 B	53,2 A
SEM	0,10	0,04	0,26	1,62
Prob F				
Classe de I_{AD}	<0,001	<0,001	<0,001	0,003
TP	0,121	<0,001	<0,001	0,002

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

No geral dos três pomares, para o calibre, não houve diferenças tanto entre as classes como para o tempo de prateleira, bem como para o peso, que apenas evidenciou diferenças para o tempo de prateleira no pomar Barreiras devido à desidratação, também comprovada visualmente. A classe de I_{AD} mostra não influenciar os parâmetros calibre e peso. Para o parâmetro I_{AD} de um modo geral também existiram diferenças entre as classes de I_{AD} , revelando que mantiveram as diferenças durante a conservação, já após os 5 dias de tempo de prateleira o valor de I_{AD} decresceu devido ao avançar da maturação, como esperado. A cor teve um comportamento igual ao I_{AD} .

A firmeza em todos os pomares mostrou um decréscimo significativo passados os 5 dias de tempo de prateleira, contudo entre as classes de I_{AD} , apesar de uma correlação interessante entre o I_{AD} e a firmeza verificada no ensaio de campo, a segregação de lotes segundo o I_{AD} após conservação em frio normal, não mostrou diferenças significativas entre os pomares segundo a firmeza à saída da câmara, sugerindo que o I_{AD} não gera lotes com valores de firmeza significativamente diferentes, para quando se trata de um intervalo de 0,2 de I_{AD} . Uma tendência semelhante foi evidenciada para o parâmetro acidez.

Relativamente ao brix, de um modo geral não existem diferenças entre a saída da câmara e passados 5 dias, já entre as classes o comportamento varia conforme o pomar. Para os parâmetros representativos da capacidade antioxidante, no geral, a classe 1 mostra possuir significativamente maior teor de vitamina C e compostos fenólicos, já após o tempo de prateleira a vitamina C tende a diminuir e os fenóis a aumentar ligeiramente.

Etileno

Para a medição do etileno, as amostras foram caracterizadas também segundo o I_{AD} . Relativamente ao I_{AD} , tal como foi mostrado anteriormente e é possível ver no Quadro 15, este parâmetro mostra diferenças significativas entre as classes de I_{AD} , à saída da câmara, bem como após 5 dias de tempo de prateleira. Para o etileno após a saída da câmara, é possível observar diferenças significativas entre a classe 1 (menor taxa de etileno) e a classe 3 (maior taxa de etileno) do pomar Barreiras, esta classe foi a que teve maior taxa de etileno,

possivelmente explicando a razão pela qual foi também a que tinha decrescido mais relativamente à firmeza. Esta relação já foi referida por Hiwasa *et al.* (2003). Ressalva-se no entanto, que este resultado possa ser devido à amostragem. No pomar Freiria após saída da câmara a classe 2 também mostrou diferenças significativas relativamente à 1 e 3; contrariamente à classe 3 do pomar Barreiras, esta classe 2 do pomar Freiria foi a que mostrou uma menor taxa de produção de etileno no geral dos pomares e classes de I_{AD}. Após 5 dias de tempo de prateleira, entre os pomares, apenas na Freiria houve diferenças significativas entre a classe 1 e 3, sendo a classe 3 a que evidencia a menor taxa de produção de etileno, possivelmente porque representa a classe de frutos mais imaturos do pomar que à colheita se encontrava mais atrasado na maturação.

Quadro 15 - Caracterização dos frutos segundo I_{AD} e etileno conservados em atmosfera de frio normal

Pomar	Classe de I _{AD}	I _{AD}		Etileno (µl/kg/h)	
		TP - 0 dias	TP - 5 dias	TP - 0 dias	TP - 5 dias
A - Barreiras	1-(1,4 - 1,6)	0,18 C	0,13 E	42,2 BC	83,1 AB
A - Barreiras	2-(1,6 - 1,8)	0,47 B	0,43 CD	57,2 AB	69,3 AB
A - Barreiras	3-(1,8 - 2,0)	0,68 A	0,70 AB	72,1 A	78,5 AB
B - Freiria	1-(1,4 - 1,6)	0,34 B	0,28 DE	35,3 C	85,7 A
B - Freiria	2-(1,6 - 1,8)	0,66 A	0,70 AB	12,7 D	66,1 AB
B - Freiria	3-(1,8 - 2,0)	0,75 A	0,78 A	33,4 C	53,5 B
C - Tamuge	1-(1,4 - 1,6)	0,19 C	0,17 E	55,1 AB	84,2 AB
C - Tamuge	2-(1,6 - 1,8)	0,43 B	0,32 CDE	49,3 BC	93,3 A
C - Tamuge	3-(1,8 - 2,0)	0,63 A	0,53 BC	38,7 BC	90,9 A
SEM		0,03	0,06	4,84	7,68
Prob F		0,116	0,046	<0,001	0,039

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 8 frutos por classe de I_{AD} e pomar. TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

De um modo geral a classe de I_{AD} parece não mostrar uma relação com a produção de etileno, apenas existe uma tendência em relação aos pomares, em que o pomar Freiria à saída da câmara parece ser o que produz menos etileno e o pomar Tamuge o com a taxa maior, o que vai de encontro com o estado de maturação à colheita, sendo a Freiria o mais atrasado e Tamuge o mais adiantado. Contudo passados 5 dias de tempo de prateleira, houve um aumento da taxa de produção de etileno mas também uma homogeneização entre pomares.

Desordens fisiológicas

As desordens fisiológicas foram avaliadas quantitativamente e qualitativamente, como mostra o Anexo 2, Figura A31 e a Figura 28, respetivamente. Contudo a tendência de ambas as figuras é igual, evidenciando que não existia diferenças significativas relativamente à severidade das desordens nos lotes.

Para o escaldão superficial, como é possível observar na Figura 28, não houve diferenças significativas entre as classes de I_{AD}, bem como para o acastanhamento, que apenas mostrou diferenças no pomar Freiria entre a classe 1 e as classes 2 e 3. Contudo entre pomares é notória uma diferença entre eles. Praticamente só os pomares Barreiras e Freiria apresentaram sintomas de escaldão, variando entre os 12% e 33% de frutos afetados. Estes valores podem estar relacionados com o estado de maturação dos pomares à colheita,

pois como foi mostrado, o pomar Tamuge era o que apresentava um grau de maturação mais avançado e sabe-se que os frutos mais maduros apresentam menos sintomas em comparação com frutos de colheitas mais precoces (Bramlage, 1988; Avelar, 2001; Erkan e Pekmezci, 2004; Calvo e Candan, 2010).

Relativamente aos acastanhamentos internos o pomar Barreiras foi o que mostrou um melhor desempenho, ao contrário do pomar Freiria que para as classes 2 e 3 apresentou 77% e 79% de frutos afetados, respetivamente. Estes dados sugerem que para conservação em frio normal, o estado de maturação intermédio representado pelo pomar Barreiras é o mais adequado, pois do pomar Freiria, classe 1 e do pomar Tamuge classe 3, são os níveis de maturação que mais se aproximam do pomar Barreiras e foram também os que apresentaram tendencialmente melhores resultados. Também valores de índice de severidade para acastanhamentos internos para as classes 2 e 3 do pomar Freiria se enquadram com os obtidos por Silva (2006) para colheitas precoces.

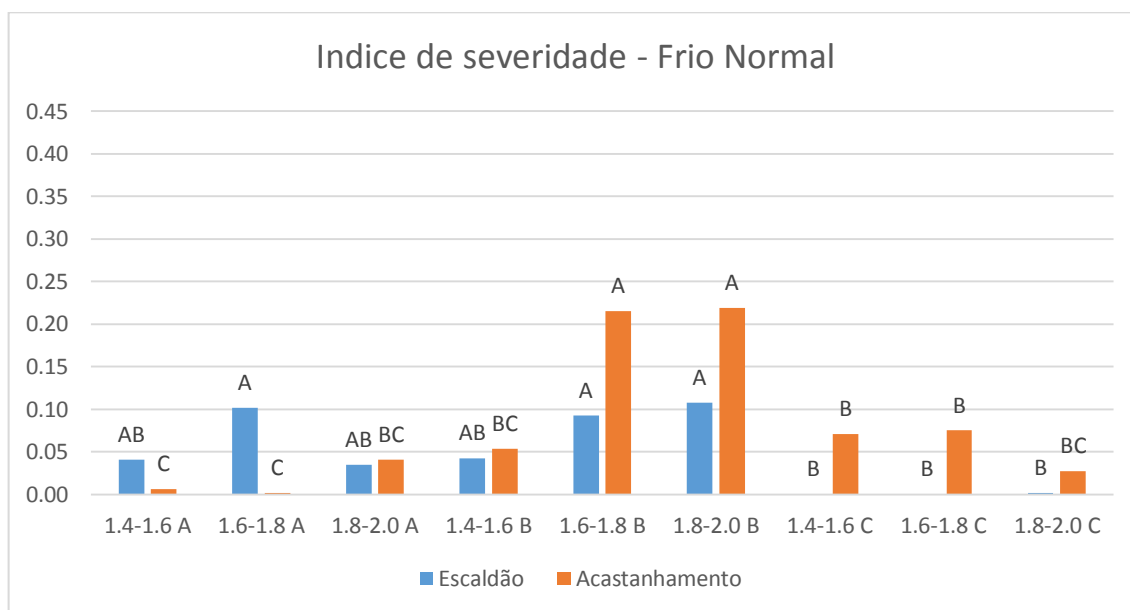


Figura 28 - Índice de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD}. N=130 frutos. Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes.

O pomar Barreiras e o pomar Tamuge, tal como referido anteriormente, apresentam à partida um potencial de conservação superior que o pomar Freiria, aliados a diversos fatores de pré-colheita (Ferguson *et al.*, 1999; Kupferman, 2001) fazendo com que o fator 'pomar' se sobreponha às classes de I_{AD}. Em 'Granny Smith', maçãs menos maduras de classe de I_{AD} 1.8-2.0 foram as mais suscetíveis à ocorrência de escaldão, com 100% de incidência, 2 meses após a conservação; em 'Crisp Pink' a percentagem de incidência de escaldão também se correlacionou com as classes de maturação para períodos de 4 e 6 meses de conservação, os frutos mais maduros evidenciaram menos escaldão do que os mais imaturos (Farneti *et al.* 2015).

4.2.2 Caracterização dos frutos conservados em atmosfera controlada dinâmica

Após a conservação em atmosfera controlada dinâmica, os frutos do pomar Barreiras para o parâmetro calibre não mostraram diferenças significativas entre as diferentes classes de I_{AD} , como é possível observar no Quadro 16. Para este parâmetro após 5 dias de tempo de prateleira houve um decréscimo significativo, possivelmente causado pela desidratação. Relativamente ao I_{AD} e à firmeza, seguem o padrão normal já discutido para os frutos conservados em atmosfera de frio normal.

O brix mostra diferenças significativas entre as classes 1 e 2, em que a classe 1 é a que apresenta o valor mais elevado como expectável, bem como para o tempo de prateleira, aumentando após os 5 dias. Já a acidez não registou quaisquer diferenças entre as classes, bem como após o tempo de prateleira. Os fenóis apresentam diferenças significativas entre a classe 1 e 2, em que a classe 1 apresenta um valor mais elevado, após os 5 dias de tempo de prateleira os fenóis aumentaram significativamente.

Quadro 16 - Pomar A - Barreiras - Variáveis sem interação (Classe de I_{AD} *TP>0,05)

	Calibre	I_{AD}	Firmeza	Brix	Acidez	Fenóis
	mm		kg 0,5 cm ⁻²	%	gL ⁻¹	mg/100mL
Classe de I_{AD}						
1 (1.4-1.6)	62,0	1,0 C	4,7 C	13,6 A	1,5	40,4 A
2 (1.6-1.8)	61,0	1,2 B	4,9 B	13,0 B	1,5	35,1 B
3 (1.8-2.0)	61,4	1,4 A	5,2 A	13,3 AB	1,6	35,8 AB
SEM	0,36	0,02	0,04	0,13	0,04	1,40
TP						
A - 0	62,3 A	1,4 A	5,4 A	13,1 B	1,5	34,5 B
B - 5	60,7 B	1,0 B	4,5 B	13,5 A	1,6	39,6 A
SEM	0,30	0,02	0,03	0,11	0,03	1,14
Prob F						
Classe de						
I_{AD}	0,186	<0,001	<0,001	0,004	0,198	0,026
TP	<0,001	<0,001	<0,001	0,034	0,838	0,004

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

No Quadro 17 é possível observar uma diminuição significativa do peso após a saída da câmara e passados 5 dias à temperatura ambiente. Para o parâmetro cor apenas é observada diferenças estatísticas entre a classe 1 e as restantes, em que esta se apresenta com uma tonalidade mais amarela, pois esta classe também se trata de uma classe mais avançada na maturação.

A vitamina C tem um comportamento semelhante ao registado em conservação de atmosfera normal, pois a classe 1 possui significativamente um teor maior em ácido ascórbico, e no geral das classes diminui significativamente após os 5 dias de tempo de prateleira.

Quadro 17 - Pomar A - Barreiras - Variáveis com interação (Classe I_{AD}*TP<0,05)

Classe de I _{AD}	TP	Peso mm	Cor Hue °	Vitamina C mg/100mL
1 (1.4-1.6)	A - 0	140,8 A	111,1 B	12,1 A
	B - 5	127,0 B	105,7 D	7,0 CD
2 (1.6-1.8)	A - 0	131,2 AB	113,7 A	9,1 B
	B - 5	131,2 AB	108,5 C	6,0 D
3 (1.8-2.0)	A - 0	142,5 A	114,1 A	8,2 BC
	B - 5	127,0 B	111,2 B	5,6 D
SEM		3,09	0,33	0,46
Prob F				
Classe de I _{AD}		0,491	<0,001	<0,001
TP		<0,001	<0,001	<0,001
Interação		0,025	<0,001	0,032

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após a saída da câmara).

Para o pomar Freiria conservado em atmosfera controlada dinâmica é possível observar, no Quadro 18, que para o parâmetro peso e calibre não foram evidenciadas diferenças significativas tanto entre as classes, bem como entre o tempo após a saída da câmara, comprovando as observações visuais, pois este pomar não apresentava sintomas de desidratação. O I_{AD} apresenta mais uma vez as diferenças expectáveis.

Para a cor, a par com os valores evidenciados pelo pomar Barreiras, este pomar apresenta diferenças estatísticas entre a classe 1 e as restantes, em que esta se apresenta com uma tonalidade mais amarela, bem como os frutos após 5 dias de tempo de prateleira.

O teor em fenóis mais uma vez, apresenta valores mais elevados para a classe 1 do que para as restantes, contudo após o tempo de prateleira o teor em ácido gálico diminui nos frutos o que não se tinha registado no pomar Barreiras em ACD, bem como nos pomares conservados em atmosfera de frio normal.

Quadro 18 - Pomar B - Freiria - Variáveis sem interação (Classe de $I_{AD} \cdot TP > 0,05$)

	Peso	Calibre	I_{AD}	Cor	Brix	Fenóis
	g	mm		Hue °	%	mg/100mL
Classe de I_{AD}						
1 (1.4-1.6)	145,2	63,3	1,0 C	108,4 B	13,0 A	38,7 A
2 (1.6-1.8)	147,8	63,8	1,3 B	113,4 A	11,1 B	16,6 B
3 (1.8-2.0)	140,9	62,7	1,6 A	114,2 A	11,0 B	19,6 B
SEM	2,55	0,40	0,02	0,30	0,09	1,48
TP						
A - 0	146,2	63,4	1,5 A	114,4 A	11,5 B	28,7 A
B - 5	143,1	63,1	1,1 B	109,6 B	11,9 A	21,2 B
SEM	2,08	0,33	0,01	0,24	0,07	1,21
Prob F						
Classe de I_{AD}	0,162	0,150	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
TP	0,281	0,491	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

No Quadro 19 é possível observar as diferenças estatísticas esperadas para o parâmetro firmeza, indo ao encontro da tendência mostrada pelos frutos conservados em FN. Para a acidez apenas se registou diferenças significativas na classe 1, entre a saída da câmara e após 5 dias de tempo de prateleira, resultados semelhantes foram obtidos no pomar Barreiras conservado em ACD. No pomar Freiria à saída da câmara apenas a classe 1 se destacou significativamente, possuindo um teor em ácido ascórbico superior às restantes, esta classe também foi a única que decresceu o teor de vitamina C após os 5 dias, evidenciando que os frutos das classes 2 e 3 evoluíram pouco após a saída da câmara.

Quadro 19 - Pomar B - Freiria - Variáveis com interação (Classe $I_{AD} \cdot TP < 0,05$)

Classe de I_{AD}	TP	Firmeza kg 0,5cm ⁻²	Acidez g/100mL	Vitamina C mg/100mL
1 (1.4-1.6)	A - 0	5,1 D	1,5 B	9,7 A
	B - 5	4,3 E	1,7 A	6,5 B
2 (1.6-1.8)	A - 0	5,5 B	1,5 B	6,8 B
	B - 5	5,0 D	1,5 B	5,2 B
3 (1.8-2.0)	A - 0	5,9 A	1,4 B	5,6 B
	B - 5	5,3 C	1,5 B	5,2 B
SEM		0,05	0,04	0,46
Prob F				
Classe de I_{AD}		<0,001	<0,001	<0,001
TP		<0,001	<0,001	<0,001
Interação		0,012	0,025	0,018

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após a saída da câmara).

Em frutos conservados em atmosfera controlada dinâmica do pomar Tamuge, para o parâmetro peso, como é observável no Quadro 20, existem diferenças significativas entre algumas classes, bem como para o tempo de prateleira, estas diferenças poderão ser explicadas por desidratação.

Quadro 20- Pomar C - Tamuge - Variáveis sem interação (Classe de I_{AD} *TP>0,05)

Peso	
Classes de I_{AD}	g
1 (1.4-1.6)	137,2 B
2 (1.6-1.8)	147,7 A
3 (1.8-2.0)	141,8 AB
SEM	2,69
A - 0	146,6 A
B - 5	137,9 B
SEM	2,20
Classe de I_{AD}	0,025
TP	0,006

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

No Quadro 21, analisando os parâmetros calibre e brix é possível observar algumas diferenças significativas nomeadamente após os 5 dias de tempo de prateleira, o facto do calibre diminuir e o brix aumentar, sugere que houve desidratação, esta constatação foi também suportada pelo parâmetro peso. Tanto o I_{AD} como a cor apresentam uma tendência igual ao pomar Barreiras. A firmeza neste pomar não apresentou diferenças significativas entre as classes à saída da câmara, contrariamente com o que aconteceu nos outros pomares, paralelamente com o que aconteceu na conservação em atmosfera normal, o parâmetro I_{AD} evidencia não segregar lotes com valores de firmeza estatisticamente diferentes.

Quadro 21 – Pomar C – Tamuge - Variáveis com interação (Classe I_{AD} *TP<0,05)

		Calibre	I_{AD}	Cor	Firmeza	Brix
Classe de I_{AD} TP		mm		Hue °	Kg 0,5cm ⁻²	%
1 (1.4-1.6)	A - 0	62,6 AB	0,7 C	106,6 B	4,5 B	15,7 AB
	B - 5	62,7 AB	0,5 D	102,1 D	3,6 D	15,9 A
2 (1.6-1.8)	A - 0	64,4 A	1,0 B	111,1 A	4,7 B	14,7 C
	B - 5	63,6 AB	0,7 C	104,5 C	3,7 D	15,8 A
3 (1.8-2.0)	A - 0	65,0 A	1,2 A	112,7 A	5,1 A	14,9 BC
	B - 5	61,8 B	1,0 B	108,6 B	4,0 C	16,1 A
SEM		0,63	0,03	0,51	0,05	0,21
Prob F						
Classe de I_{AD}		0,096	<0,001	<0,001	<0,001	0,048
TP		0,017	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
Interação		0,030	0,011	0,029	0,033	0,033

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após a saída da câmara).

Para o parâmetro acidez, como se observa no Quadro 22, os frutos do pomar Tamuge, apenas apresentaram diferenças significativas entre as classes 2 e 3 à saída da câmara.

A vitamina C à saída da câmara é significativamente superior na classe 1 que nas classes 2 e 3, contudo em todas as classes se registra um decréscimo significativo no teor de ácido ascórbico nos frutos, resultado na evolução na maturação dos frutos em tempo de prateleira. Já os fenóis apenas apresentam diferenças significativas entre a classe 1 (maior teor em ácido gálico) e as restantes, esta classe também registra um decréscimo significativo em compostos fenólicos após os 5 dias de tempo de prateleira.

Quadro 22 - Pomar C - Tamuge - Variáveis com interação (Classe I_{AD}*TP<0,05)

Classe de I _{AD}	TP	Acidez g/100mL	Vitamina C mg/100mL	Fenóis mg/100mL
1 (1.4-1.6)	A - 0	1,9 AB	12,1 A	44,3 A
	B - 5	1,8 AB	6,8 C	32,4 B
2 (1.6-1.8)	A - 0	1,7 B	9,2 B	28,8 B
	B - 5	1,8 AB	5,3 D	31,2 B
3 (1.8-2.0)	A - 0	2,0 A	9,2 B	33,0 B
	B - 5	1,8 AB	5,2 D	31,8 B
SEM		0,07	0,30	2,13
Prob F				
Classe de I _{AD}		0,055	<0,001	0,002
TP		0,025	<0,001	0,053
Interação		0,038	0,043	0,007

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 30 frutos por classe de I_{AD} e tempo de prateleira. TP – tempo de prateleira (dias após a saída da câmara).

No geral dos pomares, os parâmetros calibre e peso evidenciaram haver mais desidratação em conservação em atmosfera controlada dinâmica do que em atmosfera normal, estas diferenças são possivelmente motivadas pela maior duração do tempo de conservação.

Os dados obtidos sugerem haver um aumento do %brix após a saída da câmara, contrariamente ao que acontecia em atmosfera de frio normal, motivada pela transpiração (perda de água) dos frutos em tempo de prateleira. Também a acidez parece mostrar diferenciações entre a modalidade de frio normal e de atmosfera controlada dinâmica, pois era mostrada alguma diferença entre classes e mesmo no tempo de prateleira, que na modalidade de ACD parecem ser mais homogêneas.

Para a firmeza continua a haver, no geral, diferenças entre as classes de I_{AD}, em que a classe 1 apresenta valores de firmeza menores que a classe 3, bem como após o tempo de prateleira a firmeza decresce, mostrando a relação que ambos têm com a maturação. Em paralelo com o que acontecia em atmosfera de frio normal, a classe 1 de I_{AD} é a que apresenta um maior teor em vitamina c e compostos fenólicos.

Etileno

Segundo o parâmetro I_{AD} , como mostra o Quadro 23, é de salientar o decréscimo deste parâmetro entre os frutos que saíram da câmara e após os 5 dias de tempo de prateleira.

De um modo geral para este parâmetro tanto à saída da câmara, bem como, após 5 dias à temperatura ambiente, é notória a diferença significativa entre as classes. Relativamente ao etileno à saída da câmara, a classe 3 do pomar Freiria é a que apresenta a menor taxa de produção e a classe 1 do pomar Tamuge, representando respetivamente a classe mais imatura do pomar mais atrasado na maturação e a classe de frutos mais maduros do pomar mais adiantado na maturação.

Similarmente ao que aconteceu em atmosfera de frio normal, os frutos após os 5 dias de tempo de prateleira parecem apresentar uma homogeneização na taxa de produção de etileno. De um modo geral os frutos conservados em ACD tendem a apresentar valores de taxa de produção de etileno, após o tempo de prateleira, menores do que os conservados em FN.

Quadro 23 - Caracterização dos frutos segundo I_{AD} e etileno conservados em atmosfera controlada dinâmica.

Pomar	Classe de I_{AD}	I_{AD}		Etileno ($\mu\text{l/kg/h}$)	
		TP - 0 dias	TP - 5 dias	TP - 0 dias	TP - 5 dias
A - Barreiras	1-(1,4 - 1,6)	1,09 E	0,64 DE	50,3 BC	62,7 A
A - Barreiras	2-(1,6 - 1,8)	1,31 CD	0,81 CD	50,0 BC	54,9 AB
A - Barreiras	3-(1,8 - 2,0)	1,60 B	0,97 BC	41,5 BCD	44,1 BC
B - Freiria	1-(1,4 - 1,6)	1,25 D	0,82 CD	46,9 BC	51,0 ABC
B - Freiria	2-(1,6 - 1,8)	1,39 C	1,10 B	29,2 CD	53,1 ABC
B - Freiria	3-(1,8 - 2,0)	1,73 A	1,32 A	22,4 D	56,6 AB
C - Tamuge	1-(1,4 - 1,6)	0,79 F	0,49 E	74,8 A	63,9 A
C - Tamuge	2-(1,6 - 1,8)	1,27 CD	0,74 D	52,7 B	50,3 ABC
C - Tamuge	3-(1,8 - 2,0)	1,31 CD	1,05 B	34,4 BCD	38,8 C
SEM		0,03	0,05	5,24	3,63
Prob F		<0,001	0,092	0,024	0,003

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes, SEM- Erro padrão da média, N = 8 frutos por classe de I_{AD} e pomar. TP – tempo de prateleira (dias após saída da câmara).

Desordens fisiológicas

Como mostra a Figura 29, é evidente que a modalidade de atmosfera controlada dinâmica controlou totalmente o escaldão superficial, possivelmente relacionado com o facto desta modalidade controlar melhor a taxa de produção de etileno, pois passados 5 dias de tempo de prateleira a produção de etileno em ACD foi inferior ao observado em FN. Contudo, o acastanhamento agravou-se na modalidade de ACD (Bramlage, 1988; Kupferman, 2001; Zanella, 2003; Lurie e Watkins, 2012).

Relativamente à influência das classes de I_{AD} , apenas foi significativa a classe 3 do pomar Freiria, com cerca de 6% dos frutos afetados (Anexo 2, Figura A32) que como já referido, representa a classe mais imatura do pomar com a maturação à colheita mais

atrasada (Almeida, 2017). Mais uma vez, a influência do fator 'pomar' é salientada, em que estatisticamente o pomar Tamuge foi o mais afetado por acastanhamento interno, chegando a 90% dos frutos afetados (Anexo 2, Figura A32), tendo em conta que era o pomar mais adiantado na maturação, sugere ser essa a causa, pois frutos mais adiantados na maturação apresentam mais sintomas (Verlinden *et al.*, 2002).

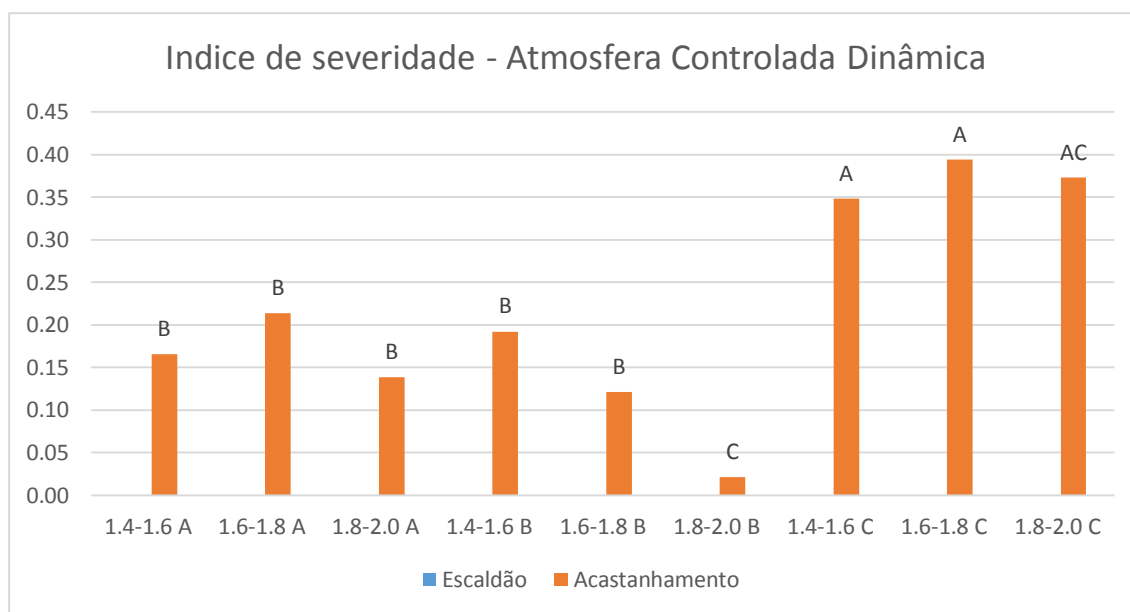


Figura 29 - Índice de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD} . $N=130$ frutos. Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes.

5. Conclusão

Com a realização do presente trabalho é de destacar a importância do momento ótimo de colheita, pois a data de colheita tem grande influência sobre qualidade final e o seu potencial de armazenamento. Neste trabalho, foi também demonstrada a relevância que têm os parâmetros para avaliar a maturação e quais as suas limitações. É também de salientar a importância de uma amostragem criteriosa e quantitativamente adequada, contudo se forem utilizados métodos destrutivos, inviabiliza-se um grande número de frutos daí a importância da introdução de métodos não destrutivos como o DA-meter, revelando-se um aparelho, fácil e rápido de utilizar.

Resposta às seguintes questões:

1. O I_{AD} pode ser utilizado para prever a data de maturação da pera 'Rocha'?
 - O I_{AD} é um índice interessante, relacionando-se com a firmeza e a taxa de produção de etileno, contudo revelou-se pouco sensível a variações na maturação para ser utilizado sozinho.
 - Atualmente, a melhor forma de avaliar a maturação em pera 'Rocha' é utilizando vários índices e de uma forma progressiva criando uma tendência da evolução da maturação, pois valores pontuais podem se revelar errôneos.
 - É de salientar a importância da firmeza, pois é dos índices mais utilizados em pera e neste trabalho mostra realmente a sua importância. No entanto o índice de streif também mostrou uma relação elevado com I_{AD} .
2. Poderá ser utilizado para prever a qualidade?
 - O I_{AD} não se relacionou com teor em sólidos solúveis, vitamina C e fenóis
 - O I_{AD} obteve uma fraca relação com acidez e calibre
 - Salientar que o teor em sólidos solúveis, sendo um dos principais parâmetros de qualidade, mostrou-se altamente dependente do pomar.
3. O I_{AD} poderá ser usado para segregar lotes com diferente potencial de conservação? Isto é, poderemos usar este método não destrutivo para prever os acidentes fisiológicos de conservação em particular, o escaldão e o acastanhamento interno?
 - O I_{AD} revelou pontualmente diferenças significativas no aparecimento de desordens fisiológicas, mas não há uma correlação direta entre os valores de I_{AD} e as desordens fisiológicas.
 - O fator 'pomar' mostrou influência no aparecimento de desordens fisiológicas
 - Salientar que a modalidade de atmosfera controlada dinâmica controlou totalmente os sintomas de escaldão superficial.

Este estudo inicia uma abordagem a uma utilização de métodos não destrutivos, em pera 'Rocha' para determinação do momento ótimo de colheita, bem como, na utilização para segregação de lotes para conservação.

Referências Bibliográficas

- Abbasi, N. A., Kushad, M. M., Hafiz, I. A., Maqbool, M. (2008) Relationship of superficial scald related fruit maturity with polyphenoloxidase and superoxide dismutase activities in red spur delicious apples. *Asian Journal of Chemistry*, 20(8), pp.5986-5996
- Abbott, J.A. (1999). Quality measurement of fruits and vegetables. *Postharvest Biology and Technology* 15: 207-225.
- Afzal, F., Khurshid, R., Ashraf, M. & Kazi, A. G., 2014. Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Response to Pathogens and Wounding. Em: P. Ahmad, ed. *Oxidative Damage to Plants*. London : Elsevier, pp. 397-424.
- Ahmad, P., Jaleel, C. A., Salem, M. A., Nabi, G., Sharma, S. (2010) Roles of enzymatic and nonenzymatic antioxidants in plants during abiotic stress. *Critical reviews in biotechnology*, 30, pp.161–175.
- Ahmad, M. S., Siddiqui, M. W. (2015). *Postharvest Quality Assurance of Fruits. Practical Approaches for Developing Countries*. Springer.
- Alexandre, J., (2001). Colheita da pera ‘Rocha’ . In: Alexandre, J., Silva, A., Soares, J., (Eds.), *O Livro da pera ‘Rocha’* . Associação Nacional de Produtores de Pera ‘Rocha’.
- Almeida, D. (2005). *Manuseamento de Produtos Hortofrutícolas*. Porto: SPI.
- Almeida, D.P.F. 2017. Novas recomendações para o armazenamento prolongado de pera ‘Rocha’ produzida na região Oeste de Portugal. *Atas Portuguesas de Horticultura*.
- Anet, E. F. L. J. (1969). Autoxidation of α -farnesene. *Australian Journal of Chemistry* 22: 2403 – 2410.
- Anet, E. F. L. J. (1972a). Superficial scald, a functional disorder of stored apples: IX. Effect of maturity and ventilation. *Journal of the science of food and agriculture*. 23: 763-769.
- ANP, 2009 - Associação Nacional de Produtores de Pera ‘Rocha’. *Caderno de Especificações Pera ‘Rocha’ do Oeste D.O.P.*
- ANP, 2017a – Associação Nacional de Produtores de pera ‘Rocha’: <http://www.perarocha.pt>, acessado a 25/10/2017
- ANP, 2017b – Associação Nacional de Produtores de pera ‘Rocha’. *Relatório de colheita 2017*
- Avelar, M.L., Rizzolo, A., Lombardi, P. and Eccher Zerbini, P. (1994). Physiological and quality responses of "Rocha" pears to controlled atmosphere storage. E. J. Woltering, L. G. Gorris, W. M. F. Jongen, B. McKenna, E. Höhn, P. Bertolini, M. L. Woolfe, A. de Jager, R. Ahvenainen, F. Artes Calero (Eds.). *The PostHarvest Treatment of Fruit and Vegetables Current Status and Future Prospects, Proceedings of the Sixth International Symposium of the European Concerted Action Program COST 94, 19-22 October 1994, Oosterbeek, The Netherlands*, pp 15-22.
- Avelar, M. L., 2001. Principais aspectos associados à conservação frigorífica da pêra ‘Rocha’. *Agroforum*, 15: 36-39.

- Bain, J. M. (1956). A histological study of the development of superficial scald in Granny Smith apples. *J. Hort. Sci.* 31: 234-238.
- Bain, J. M., Mercer, F. J. (1963). The submicroscopic cytology of superficial scald, a physiological disease of apples. *Austral. J. Biol. Sci.* 16:442-449.
- Barden, C. L., Bramlage, W. J. (1994) Relationships of antioxidants in apple peel to changes in α -farnesene and conjugated trienes during storage, and to superficial scald development after storage. *Postharvest Biology and Technology*. 4: 23-33.
- Bertone, E., Venturello, A., Leardi, R., Geobaldo, F. (2012). Prediction of the optimum harvest time of 'Scarlet' apples using DR-UV-Vis and NIR spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 69: 15-23.
- Blanpied, D.G., 1975. Core breakdown of New York 'Bartlett' pears. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 100, 198-200.
- Beaudry, R., Schwallir, P., Lenington, M. 1993. Apple Maturity Prediction: An Extension Tool to Aid Fruit Storage Decisions. *HortTechnology* 3(2): 233-239.
- Boss, P. K., Gardner, R. C., Janssen, B., Ross, G. S. (1995) An apple polyphenol oxidase cDNA is up-regulated in wounded tissues. *Plant Molecular Biology*, 27(2), pp 429–433.
- Bramlage, W. J. (1983). Measuring Fruit Firmness with a Penetrometer. *Post Harvest Pomology Newsletter*. 1(3).
- Bramlage, W. J. (1988) Apple Scald, a Complex Problem. University of Massachusetts, Department of Plant and Soil Sciences. *Post Harvest Pomology Newsletter*, 6(2): 11-14
- Broadley, M., Brown, P., Cakmak, I., Rengel, Z., Zhao, F. (2012) Function of Nutrients: Micronutrients. *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. pp 191-248
- Brooks, C. S., Cooley, J. S., Fisher, D. F. (1919). Nature and control of apple scald. *J. Agr. Res.* 1
- Burda, S., Oleszek, W., Lee, C. Y. (1990). Phenolic compounds and their changes in apples during maturation and cold storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 38: 945-948.8:211-220.
- Burg, S.P. & Burg, E.A. (1967). Molecular requirements for the biological activity of ethylene. *Plant Physiology*, 42, pp.114–152.
- Butz, P., Hofmann, C. & Tauscher, B. (2005). Recent developments in noninvasive techniques for fresh fruits and vegetable internal quality analysis. *Journal of Food Science* 70: 131-141.
- Calvo, G. and Candan, A.P. (2010) 1-Methylcyclopropene (1-MCP) affects physiological disorders in 'Granny Smith' apples depending on maturity stage. *Acta Hort.* 857: 63-70.
- Castro-Giráldez, M., Fito, P. J., Chenoll, C., e Fito, P. (2010). Development of a dielectric spectroscopy technique for the determination of apple (Granny Smith) maturity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(4), 749-754.
- Cavaco, M. (2012). Normas técnicas para a produção integrada de pomóideas. Volume II. Direção-Geral de Agricultura e Desenvolvimento Rural, Ministério da Agricultura, do Mar, do Ambiente e do Ordenamento do Território, Lisboa.

- Chen, P., Varga, D., Mielke, E., Facticeau, T., Drake, S. (1990). Control of Superficial Scald On 'Anjou' Pears by Ethoxyquin: Oxidation of α -Farnesene and its Inhibition. *Journal of food science*. 55(1), 171-175.
- Chervin, C. et al., 1996. Could studies on cell responses to low oxygen levels provide improved options for fruit storage and disinfestation? *Postharvest Biology and Technology*, 7, pp.289–299.
- Chiriboga, M. A., Schotsmans, W. C., Larrigaudière, C., Dupille, E., Recasens, I. (2013). Responsiveness of 'Conference' pears to 1-methylcyclopropene: the role of harvest date, orchard location and year. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 93, 619–625.
- Costa, G., Noferini, M., Fiori, G., Ziosi, V. (2006). Internal fruit quality: how to influence it, how to define it. *Acta Horticulturae*. 712, 339-346.
- Costa, G., Noferini, M., Fiori, G., Torrigiani, P. (2009). Use of Vis/NIR spectroscopy to assess fruit ripening stage and improve management in post-harvest chain. *Fresh Produce* 1: 35-41.
- Crisosto, C. (1994). Stone fruit maturity indices: a descriptive review. *Postharvest News and Information*. 5, 65-68.
- Davey, M.W., Franck, C., Keulemans, J. (2004) Distribution, developmental and stress responses of antioxidant metabolism in *Malus*. *Plant Cell Environ.*, 27: 1309-1320
- De Belie, N., Schotte, S., Lammertyn, J., Nicolai, B., De Baerdemaeker, J. (2000). PH—Postharvest Technology: Firmness Changes of Pear Fruit before and after Harvest with the Acoustic Impulse Response Technique. *Journal of Agricultural Engineering Research*, 77 (2), 183-191.
- DeLong, J.M., Prange, R.K., Harrison, P.A. (1999). Using the Streif Index as a Final Harvest Window for Controlled-atmosphere Storage of Apples. *HortScience* 34 (7): 1251-1255.
- Deuchande, T., Carvalho, S.M.P., Larrigaudière, C., Fidalgo, F., Guterres, U., Isidoro, N., Vasconcelos, M. (2014). Atmosfera controlada dinâmica na prevenção de acastanhamento interno em pêra 'Rocha': eficácia dos sensores de etanol e de fluorescência de clorofilas. 3º Simpósio Nacional de Fruticultura. Vila Real.
- Deuchande, T., (2016) Internal browning disorders of 'Rocha' pear during long-term storage. *Dissertação para obtenção do grau de doutorado em Biotecnologia, com especialização em Ciência e Engenharia de Alimentos*. Universidade Católica Portuguesa. Porto
- Diamantidis, G., Thomai, T., Genitsariotis, M., Nanos, G., Bolla, N., Sfakiotakis, E. (2002). Scald susceptibility and biochemical/physiological changes in respect to low preharvest temperature in 'Starking Delicious' apple fruit. *Scientia Horticulturae*. 92: 361-366.
- Dobrzanski, B., Rabcewicz, J., Rybczyński, R. (2006). Handling of Apple. Transport techniques and efficiency vibration, damage and bruising texture, firmness and quality. B. Dobrzański Institute of Agrophysics Polish Academy of Sciences. Poland.
- Du, Z., Bramlage, W. J. (1994). Superoxide Dismutase Activities in Senescing Apple Fruit (*Malus domestica* Borkh.). *Journal of Food Science*. 59: 581-584
- Du, Z., Bramlage, W. J. (1995). Peroxidative Activity of Apple Peel in Relation to Development of Poststorage Disorders. *HortScience*. 30: 205-209.
- Erkan, M. and Pekmezci, M. 2004. Harvest date influences superficial scald development in Granny Smith apples during long term storage. *Turk. J. Agric. For.* 28: 397-403.

Fallahi, E., Fallahi, B., Neilsen, G. H., Neilsen, D., Peryea, F.J. (2010) Effects of mineral nutrition on fruit quality and nutritional disorders in apples. *Acta Hort.*, 868, pp.49–60.

FAO, 2017. FAOSTAT: <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize> , aceso a 24/10/2017

Farneti, B., Gutierrez, M. S., Novak, B., Busatto, N., Ravaglia, D., Spinelli, F., Costa, G. (2015) Use of the index of absorbance difference (IAD) as a tool for tailoring post-harvest 1-MCP application to control apple superficial scald. *Scientia Horticulturae* 190:110-116

Felicetti, E., Mattheis, J. P. (2010) Quantification and histochemical localization of ascorbic acid in 'Delicious,' Golden Delicious and 'Fuji' apple fruit during on-tree development and cold storage. *Postharvest Biol. Technol.*, 56, pp. 56-63.

Ferguson, I. B., Snelgar, W., Lay-Yee, M., Watkins, C. B., Bowen, J. H. (1998). Expression of heat shock protein genes in apple fruit in the field. *Australian Journal of Plant Physiology* 25: 155 – 163.

Ferguson, I., Volz, R. & Woolf, A., 1999. Preharvest factors affecting physiological disorders of fruit. *Postharvest Biology and Technology*, Volume 15, p. 255–262.

Fernandez-Trujillo, J. P., Nock, J. F., Kupferman, E. M., Brown, S. K., Watkins, C. B. (2003). Peroxidase Activity and Superficial Scald Development in Apple Fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51: 7182-7186.

FLF, 2016 – Revista Flores Frutas e Legumes: <http://www.flfrevista.pt/2016/11/8471/> , aceso a 25/10/2017

FLF, 2018 – Revista Flores Frutas e Legumes: <http://www.flfrevista.pt/2018/01/produtores-de-pera-rocha-querem-chegar-aos-100-milhoes-de-euros-de-exportacoes-em-2019/> , aceso a 22/2/2018

Franck, C., Baetens, M., Lammertyn, J., Scheerlinck, N., Nicolaï, B. M. (2003). Ascorbic acid mapping to study core breakdown. *Postharvest Biology Technology* 30, 133-142.

Franck, C., Lammertyn, J., Tri Ho, Q., Verboven, P., Verlinden, B., Nicolaï, B.M. (2007). Browning disorders in pear fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 43: 1–13.

Giraud, M., Westercamp, P., Coureau, C., Chapon, J. F., Berrie, A. (2001). Recognizing Postharvest Diseases of Apple and Pear. *Centre Technique Interprofessionnel des Fruits et Légumes*. Paris, França.

Golding, J., Sarafis, V., McGlasson, B., Nailon, N., Cribb, B. (1995). Ultrastructural cytology of superficial scald in Granny Smith apples. *Australian Postharvest Horticultural Conference*. 375-379.

Golding, J., Sarafis, V., Crozier, S., Rose, S. (1997) Nuclear magnetic resonance imaging of superficial scald in 'Granny Smith' apples. *HortScience*, 32(1): 112-113.

Golding, J. (1999). Superficial scald in apples. Ph. D. thesis, University of Adelaide, Australia.

Golding, J. B., McGlasson, W. B., Wyllie, S. G. (2001). Relationship between production of ethylene and α -farnesene in apples, and how it is influenced by the timing of diphenylamine treatment. *Postharvest Biology and Technology*. 21:225-233.

Gomes, M.H., Vieira, T., Fundo, J.F., Almeida, D.P.F. (2014). Polyphenoloxidase activity and browning in fresh-cut 'Rocha' pear as affected by pH, phenolic substrates, and antibrowning additives. *Postharvest Biology and Technology*, 91: 32–38.

Gomes, G. (2015). Acastanhamento interno durante o armazenamento da pera 'Rocha': Impacto do baixo O₂ e alto CO₂ no metabolismo e estratégias de controlo. Dissertação para obtenção do grau de mestre em engenharia agrónomica. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Porto

Gross, K. C., Wang, C. Y., Saltveit, M. (2016) *The Commercial Storage of Fruits, Vegetables, and Florist and Nursery Stocks*. Agriculture Handbook 66, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, DC

Guerra, R., Gardé, I. V., Antunes, M. D., Silva, J. M., Antunes, R., Cavaco, A. M. (2012) A possibility for non-invasive diagnosis of superficial scald in 'Rocha' pear based on chlorophyll a fluorescence, colorimetry, and the relation between α -farnesene and conjugated trienols. *Scientia Horticulturae*, 134: 127–138.

Gutierrez, M. (2014) Fruit ripening/ scald relationship in apple. Dottorato di ricerca in Scienze e Tecnologie Agrarie, Ambientali e Alimentari. Università di Bologna. Bologna

Ho, Q. T., Verboven, P., Mebatsion, H. K., Verlinden, B. E., Vandewalle, S., Nicolai, B. M. (2009) Microscale mechanisms of gas exchange in fruit tissue. *New Phytologist*. 182: 163–174

Hawkesford, M., Horst, W., Kichey, T., Lambers, H., Schjoerring, J., Møller, I. S., White, P. (2012) Functions of macronutrients. In *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Elsevier, pp. 135–189.

Hiwasa, K., Kinugasa, Y., Amano, S., Hashimoto, A., Nakano, R., Inaba, A., Kubo, Y. (2003). Ethylene is required for both the initiation and progression of softening in pear (*Pyrus communis* L.) fruit. *Journal of Experimental Botany*. 54 (383), 771–779.

Huelin, F. E. (1968). Superficial scald, a functional disorder of stored apples. IV.—Effect of variety, maturity, oiled wraps and diphenylamine on the concentration of α -farnesene in the fruit. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 21: 44-48.

Huelin, F. E., Coggiola, I. M. (1970). Superficial scald, a functional disorder of stored apples. V.—Oxidation of α -farnesene and its inhibition by diphenylamine. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 21: 44-48.

Infante, R., Rubio, P., Contador, L., Noferini, M., Costa, G. (2011). Determination of harvest maturity of D'Agen plums using the chlorophyll absorbance index. *Cien. Inv. Agr.* 38(2):199-203.

Instituto Ricardo Jorge, 2017: <http://portfir.insa.pt/foodcomp/food?747> acedido a 7/11/2017

Isidoro, N. (2005). Evolução do α -farneseno e dos trienos conjugados e sua relação com a incidência de escaldão superficial durante o armazenamento de pera 'Rocha' – Efeitos da data de colheita, atmosfera controlada, da difenilamina e do 1-metilciclopropeno. Dissertação para obtenção do grau de mestre em ciências e tecnologia pós-colheita. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Porto

Isidoro, N. & Almeida, D.P.F. (2006). α -Farnesene, conjugated trienols, and superficial scald in "Rocha" pear as affected by 1-methylcyclopropene and diphenylamine. *Postharvest Biology and Technology*, 42, 49–56.

- Jemric, T., Lurie, S., Dumija, L., Pavicic, N., Hribar, J. (2006). Heat treatment and harvest date interact in their effect on superficial scald of 'Granny Smith' apple. *Scientia Horticultura*, 107: 155–163.
- Jha, S. N., & Matsuoka, T. (2000). Non-destructive Techniques for Quality Evaluation of Intact Fruits and Vegetables. *Food Science and Technology Research*, 6 (4): 248-251.
- Ju, Z., Yuan, Y., Liu, C., Zhan, S., Wang, M. (1996). Relationships among simple phenol, flavonoid and anthocyanin in apple fruit peel at harvest and scald susceptibility. *Postharvest Biology and Technology*. 8: 83-93.
- Kader, A. A., 1989. Mode of action of oxygen and carbon dioxide on postharvest physiology of 'Bartlett' pears. *Acta Horticulturae* 258, 161-167.
- Kader, A. A. (1995). Regulation of fruit physiology by controlled/modified atmospheres, Davis: *Acta Horticulturae*.
- Kader, A.A. (1999). Fruit Maturity, Ripening, and Quality Relationships. *Acta Hort.*, 485: 203-208.
- Kader, A. A., (2002). Postharvest Biology and Technology: An Overview. In *Postharvest Technology of Horticultural Crops*, 3rd edition. Kader, A. A. (ed.), pp 39-47, University of California, Agriculture and Natural Resources, California.
- Kadam, S. S., Dhumal, A., Shinde, N. N., 1995. Pear. Salunkhe, D. K. Kadam, S. S. (Eds), *Handbook of Fruit Science and Technology*. Marcel Dekker Inc., Nova lorque. 182-202.
- Kappel, F., Neilsen, G. H. (1994). Relationship between light microclimate, fruit growth, fruit quality, specific leaf weight and N and P content of spur leaves of 'Bartlett' and 'Anjou' pear. *Scientia Horticulturae*. 59(3–4), 187-196.
- Kerbel, E.L., Kader, A.A. & Romani, R.J. (1988). Effects of elevated CO₂ concentrations on glycolysis in intact "Bartlett" pear fruit. *Plant physiology*, 86, pp.1205–1209.
- Knee, M. (1972). Anthocyanin, Carotenoid, and Chlorophyll Changes in the Peel of Cox's Orange Pippin Apples during Ripening on and off the Tree. *Journal of Experimental Botany* 23 (74): 184-196.
- Knee, M. (1973). Effects of controlled atmosphere storage on respiratory metabolism in apple fruit tissue. *Journal of Science of Food and Agriculture*, 24, pp.1289–1298.
- Knee, M. (1980). Methods of measuring green colour and chlorophyll content of apple fruit. *J. Fd. Technol.* 15: 493-500.
- Knee, M., Hatfield, S.G.S., (1981). Benefits of ethylene removal during apple storage. *Ann. Appl. Biol.* 98, 157–165.
- Knee, M. (1987). Development of ethylene biosynthesis in pear fruits at — 1 °C. *Journal of Experimental Botany*. 38, 1724–1733.
- Kupferman, E. 2001. Storage scald of apples. *Postharvest Information Network*, pp 1-8.
- Lammertyn, J., Aerts, M., Verliden, B.E., Schotsmans, W., Nicolai, B.M. (2000). Logistic regression analysis of factors influencing core breakdown in 'Conference' pears. *Postharvest Biology and Technology*. 20, 25-37.

- Lammertyn, J., Dresselaers, T., Van Hecke, P., Jancsó, P., Wevers, M., Nicolaï, B. M. (2003a). MRI and X-ray CT study of spatial distribution of core breakdown in 'Conference pears'. *Magnetic Resonance Imaging* 21, 805-815.
- Lammertyn, J., Dresselaers, T., Van Hecke, P., Jancsó, P., Wevers, M., Nicolaï, B. M. (2003b). Analysis of the time course of core breakdown in Conference pears by means of MRI and X-ray CT. *Postharvest Biology Technology* 29, 19-28.
- Lammertyn, J., Scheerlinck, N., Jancsó, P., Verlinden, B. E., Nicolaï, B. M. (2003). A respiration-diffusion model for "Conference" pears II. Simulations and relation to core breakdown. *Postharvest Biology and Technology*, 30, pp.43–55.
- Larrigaudière, C., Lenthéric, I., Puy, J., Pintó, E. (2004). Biochemical characterisation of core browning and brown heart disorders in pear by multivariate analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 31: 29-39.
- Larrigaudière, C., Balenciaga C., Giné-Bordonaba J., Usall i Rodié J. (2017). El corazón pardo en pera: Conocimientos actuales y sistemas de prevención. Artículo Técnico. IRTA. Lleida, España.
- Lelièvre, J., Tichit, L., Dao, P., Fillion, L., Nam, Y., Pech, J., Latché, A. (1997). Effects of chilling on the expression of ethylene biosynthetic genes in Passe-Crassane pear (*Pyrus communis* L.) fruits. *Plant Molecular Biology*. 33 (5), 847–855.
- Lin, Z., Zhong, S. & Grierson, D. (2009) . Recent advances in ethylene research. *Experimental Botany*, Volume 60, pp. 3311-3336.
- Liu, Y. and Ying, Y. (2005). Use of FT-NIR spectrometry in non-invasive measurements of internal quality of 'Fuji' apples. *Postharvest Biology and Technology* 37: 65-71.
- Liu, Y., Chen, X., Ouyang, A. (2008). Non-destructive determination of pear internal quality indices by visible and near-infrared spectrometry. *LWT - Food Science and Technology* 41: 1720-1725.
- Lurie, S., Klein, J., Ben-Arie, R. (1989). Physiological changes in diphenylamine-treated 'Granny Smith' apples. *Israel Journal of Botany*. 38: 199-207.
- Lurie, S. and Watkins, C.B. 2012. Superficial scald, its aetiology and control. Review. *Postharvest Biology and Technology* 65: 44-60.
- Matheis, G. (1983) Enzymatic browning of foods. Quantitative relationships between browning and food constituents. *Z Lebensm Unters Forsch*. 76:454-4
- Maxwell, K., Johnson, G. N. (2000). Chlorophyll fluorescence—a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51, 659–668.
- Mehinagic, E., Royer, G., Bertrand, D., Symoneaux, R., Laurens, F., Jourjon, F. (2003). Relationship between sensory analysis, penetrometry and visible–NIR spectroscopy of apples belonging to different cultivars. *Food Quality and Preference* 14: 473-484.
- Meir, S., Bramlage, W. J. (1988). Antioxidant activity in Cortland apple peel and susceptibility to superficial scald after storage. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 113: 412-418.
- McGlone, V.A., Jordan, R.B., Martinsen, P.J. (2002). Vis/NIR estimation at harvest of pre and post-storage quality indices for 'Royal Gala' apple. *Postharvest Biology and Technology* 25: 135-144.

- McGuire, R.G. 1992. Reporting of objective color measurements. *HortScience* 27(12): 1254-1255.
- Millerd, A., Bonner, J. & Biale, J. B., 1952. The Climateric Rise in Fruit Respiration as Controlled by Phosphorylative Coupling, Pasadena: California Institute of Technology.
- Morris, J. R. & Brady, P. L. (2005). Temperature Effects on Produce Degradation. *Produce Degradation Pathways and Prevention*. Boca Raton: CRC Press, pp. 599-633.
- Murray, K. E., Huelin, F. E., Davenport, J., B. (1964). Occurrence of farnesene in the natural coating of apples. *Nature* 204:80.
- Murray, K. E. (1969). α -farnesene: isolation from the natural coating of apples. *Australian Journal of Chemistry*. 22:197-204.
- Neuwald, D.A. and Streif, J. (2012). Apple ripening determined by conventional methods and the 'NSure' genetic assay. *ActaHorticulturae* 934: 871-876.
- Neuwald, D. A., Sestari, I., Kitemann, D., Streif, J., Weber, A., Brackmann, A. (2014) Can mineral analysis be used as a tool to predict "Braeburn" browning disorders (BBD) in apple in commercial controlled atmosphere (CA) storage in Central Europe? *Erwerbs-Obstbau*, 56, pp.35–41.
- Nicolaï, B., Lammertyn, J., Veraverbeke, E. A. & Jancsó, P. (2005). Non-Destructive Techniques for Measuring Quality of Fruit and Vegetables. *Acta Horticulturae*. 682: 1333-1339.
- Nicolaï, B.M., Beullens, K., Bobelyn, E., Peirs, A., Saeys, W., Theron, K.I., Lammertyn, J. (2007). Nondestructive measurement of fruit and vegetable quality by means of NIR spectroscopy: A review. *Postharvest Biology and Technology* 46: 99-118.
- Nicolaï, B., Bulens, I., Baerdemaeker, J., Ketelaere, B., Hertog, M., Verboven, P., Lammertyn, J. (2009). Non-Destructive Evaluation. Detection of External and Internal Attributes Frequently Associated with Quality and Damage. *Postharvest Handling*. 421-441.
- Noferini, D., Fiori, G., Ziosi, V., Gottardi, F., Brasina, M., Mazzini, C., Costa, G. (2009). DA-Meter, più facile il controllo della qualità dei frutti dal campo alla distribuzione. *Frutticoltura*. 4, 74-80.
- Nyasordzi, J., Friedman, H., Schmilovitch, Z., Ignat, T., Weksler, A., Rot, I., Lurie, S. (2013). Utilizing the IAD index to determine internal quality attributes of apples at harvest and after storage. *Postharvest Biology and Technology* 77: 80-86.
- Paliyath, G., Murr, D. P., Handa, A. K., Lurie, S. (2008) *Postharvest Biology and Technology of Fruits, Vegetables, and Flowers*. Wiley-Blackwell Publishing. USA.
- Peirs, A., Schenk, A., Nicolaï, B.M. (2005). Effect of natural variability among apples on the accuracy of VIS-NIR calibration models for optimal harvest date predictions. *Postharvest Biology and Technology* 35: 1-13.
- Peretti, M. V., Gallerani, G., Pratella, G. C. (1994). Polyphenol fate and superficial scald in apple. *Postharvest Biology and Technology*. 4: 213-224.
- Peretti, M. V., Gallerani, G., Brodnik, U. (1996). Polyphenol polymerisation involvement in apple superficial scald. *Postharvest Biology and Technology*. 8: 11-18.

- Pinto, E., Lentheric, I., Vendrell, M., Larrigaudière, C., 2001. Role of fermentative and antioxidant metabolisms in the induction of core browning in controlled-atmosphere stored pears. *J. Science of Food and Agriculture* 81, 364-370.
- Plocharski, W. J., Konopacka, D., Zwierz, J. (2000). Comparison of Magness-Taylor's pressure test with mechanical, non-destructive methods of apple and pear firmness measurements. *Int. Agrophysics*. 14, 311-318.
- Rao, M. V., Watkins, C. B., Brown, S. K., Weeden, N. F. (1998). Active Oxygen Species Metabolism in 'White Angel' × 'Rome Beauty' Apple Selections Resistant and Susceptible to Superficial Scald. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 123: 299-304.
- Rao, C. (2015). Engineering for storage of fruits and vegetables: Cold storage, Controlled atmosphere storage, Modified atmosphere storage. BS Publications.
- Rease, J., Drake, S., Curry, E. (2007). Nitrogen fertilizer influences fruit quality, soil nutrients and cover crops, leaf color and nitrogen content, biennial bearing and cold hardiness of 'Golden Delicious'. *Journal of plant nutrition*. 30, 1585-1604.
- Rease, J., Drake, S. (2008) Effects of preharvest calcium sprays on apple and pear quality. *Journal of plant nutrition*. 16, 1807-1819.
- Reid, M. S. (2002). Maturation and maturity indices. In: *Postharvest Technology of Horticultural Crops*. (Kader, A. A. Ed.). Regents of the University of California, Division of Agricultural and Natural Resources, Oakland, CA, USA. 55–62.
- Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., Pganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*. 20: 933-956.
- Richard-Forget, F. C. and Gaillard, F. A. (1997) Oxidation of Chlorogenic Acid, Catechins, and 4-Methylcatechol in Model Solutions by Combinations of Pear (*Pyrus communis* Cv. Williams) Polyphenol Oxidase and Peroxidase: A Possible Involvement of Peroxidase in Enzymatic Browning. *J. Agric. Food Chem*. 45 (7), 2472–2476.
- Robards, K. Prenzler, P. D., Tucker, G., Swatsitang, P., Glover, W., 1999. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits. *Food Chemistry*, Volume 66, p. 401–436.
- Rowan, D. D., Hunt, M. B., Fielder, S., Norris, J., Sherburn, M. S. (2001). Conjugated Triene Oxidation Products of α -Farnesene Induce Symptoms of Superficial Scald on Stored Apples. *J. Agric. Food Chem*. 49:2780-2787.
- Rudell, D.R., Mattheis, J.R. (2009) Superficial scald development and related metabolism is modified by postharvest light irradiation. *Postharvest Biol. Technol*. 51, 174–182.
- Rupasinghe, H. P. V., Paliyath, G., Murr, D. P. (2000). Sesquiterpene α -Farnesene Synthase: Partial Purification, Characterization, and Activity in Relation to Superficial Scald Development in Apples. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 125 (1), 111-119.
- Santos, P. (2009). Aplicação da espectroscopia de infravermelho próximo na avaliação de alguns atributos de qualidade em pera 'Rocha' e maçã '.Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia Agronómica – Hortofruticultura e Viticultura. Instituto Superior de Agronomia. Lisboa.
- Saquet, A.A., Streif, J., Bangerth, F., 2000. Changes in ATP, ADP and pyridine nucleotide levels related to the incidence of physiological disorders in 'Conference' pears and 'Jonagold' apples during controlled atmosphere storage. *J. Hort. Sci. Biotechnol*. 75, 243/249.

- Saquet, A. A., Streif, J., Bangerth, F., 2003. Energy metabolism and membrane lipid alterations in relation to brown heart development in Conference pears during delayed controlled atmosphere storage. *Postharvest Biology and Technology* 30, 123-132.
- Shaham, Z., Lers, A., Lurie, S., 2003. Effect of heat or 1-methylcyclopropene on antioxidative enzyme activities and antioxidants in apples in relation to superficial scald development. *J. Am. Soc. Hortic. Sci.* 128, 761–766.
- Shewfelt, R. L., 1993. Measuring quality and maturity. In *Postharvest Handling: A Systems Approach*, Shewfelt, R. L. & Prussia, S. E. (eds.), pp 99-194, Academic Press, Reino Unido.
- Silva, F. (2006a). Atividade antioxidante da pêra cv. Rocha e ocorrência de desordens fisiológicas de conservação. Efeito da data de colheita, do regime de armazenamento e de tratamentos pós-colheita. Dissertação para obtenção do grau de mestre em ciência e tecnologia pós-colheita. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto. Porto.
- Silva, F., Gomes, M., Fidalgo, F., Almeida, D. (2006b). Influência da atmosfera controlada diferida na atividade antioxidante e acastanhamentos internos da pêra ‘Rocha’. I Simpósio Nacional de Fruticultura. Alcobça.
- Silva, F.J.P. et al., (2008a). Effect of 1-methylcyclopropene and diphenylamine on storage disorders and water-soluble antioxidants of “Rocha” pear. In *Acta Horticulturae*. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, pp. 993–998.
- Silva, E. (2008b). Influence of preharvest factors on postharvest quality. In *Wholesale success: a farmer's guide to selling, postharvest handling, and packing produce*. Midwest edition. USA
- Silva, F.J.P. et al. (2010). Antioxidant properties and fruit quality during long-term storage of “Rocha” pear: effects of maturity and storage conditions. *Journal of Food Quality*, 33, 1-20.
- Solovchenko, A.E., Chivkunova, O.B., Merzlyak, M.N., Gudkovsky, V.A. (2005). Relationships between chlorophyll and carotenoid pigments during on- and off-tree ripening of apple fruit as revealed non-destructively with reflectance spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology* 38: 9-17.
- Streif, J., Xuan, H., Saquet, A. A., Rabus, C. (2001) CA-storage related disorders in “Conference” pears. In *Acta Horticulturae*. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, pp. 635–638.
- Subedi, P.P., Walsh, K. B. (2009). Non-invasive techniques for measurement of fresh fruit firmness. *Postharvest Biology and Technology*. 51(3), 297-304.
- Thewes, F. R., Both, V., Brackmann, A., Weber, A., Anese, R. O. (2015) Dynamic controlled atmosphere and ultralow oxygen storage on ‘Gala’ mutants quality maintenance. *Food Chemistry*. 188: 62-70.
- Thomaia, T., Sfakiotakisa, E., Diamantidisb, G., Vasilakakisa, M. (1998). Effects of low preharvest temperature on scald susceptibility and biochemical changes in ‘Granny Smith’ apple peel. *Scientia Horticulturae* 76: 1-15.
- Thompson, A.K. (2010). *Controlled Atmosphere Storage of Fruits and Vegetables* 2nd ed. M. Carroll & S. Wilford, eds., London, UK: CAB International.
- Thompson, A. (2015). *Fruit and vegetables: Harvesting, handling and storage*. Volume 2. John Wiley & Sons, Ltd.

- Thompson, A. (2016). Fruit and vegetables: Hypobaric, Hyperbaric and Controlled Atmosphere. Springer briefs in food, health, and nutrition. Huddersfield, UK.
- Tijskens, L.M.M., Herold, B., Zude, M., Geyer, M. 2008. How to choose criteria to harvest apples. The dynamics of maturity (Conference Paper). *Acta Horticulturae* 796: 197-200.
- Tomás-Barberán, F. A. & Espín, J.C. (2001) Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, pp.853–876.
- Toivonen, P., Hampson, C. (2014). Relationship of IAD index to internal quality attributes of apples treated with 1-methylcyclopropene and stored in air or controlled atmospheres. *Postharvest Biology and Technology*. 91, 90–95
- Trivedi, P., Caridhas, D., Solomons, T. 2010. Apple Scald Development and Regulation. *Proc. IXth Intl. Contr. Atmos. Res. Conf. ISHS 2010*. Ed.: R.M. Beaudry. *Acta Hort.* 857: 349-358.
- Tsantili, E., Gapper, N.E., Apollo Arquiza, J.M.R., Whitaker, B.D., Watkins, C.B. (2007). Ethylene and α -farnesene metabolism in green and red skin of three apple cultivars in response to 1-methylcyclopropene (1-MCP) treatment. *J. Agric. Food Chem.* 55: 5267- 5276.
- Tvergyak, P. J. 1985 Pear Maturity Indexes Used to Time Harvest Date. *Post Harvest Pomology Newsletter*, Vol. 3, No. 3
- Verlinden, B. E., de Jager, A., Lammertyn, J., Schotsmans, W., Nicolai, B. M., 2002. Effect of harvest and delayed controlled atmosphere storage conditions on core breakdown incidence in Conference pears. *Biosystems Engineering* 83, 339-347.
- Veltman, R.H., Sanders, M.G., Persijn, S.T., Peppelenbos H.W., Oosterhaven, J. (1999a). Decreased ascorbic acid levels and brown core development in pears (*Pyrus communis* cv. Communis). *Physiologia Plantarum*, 107: 39-45.
- Veltman, R.H., Larrigaudière, C., Wichers, H. J., Van Schaik, A. C. R., Van der Plas, L. H. W., Oosterhaven, J. (1999b) PPO activity and polyphenol content are not limiting factors during brown core development in pears (*Pyrus communis* L. cv. Conference). *Journal of Plant Physiology*, 154, pp.697–702.
- Veltman, R. H., Kho, R. M., van Schaik, A. C. R., Sanders, M. G., Oosterhaven, J., 2000. Ascorbic acid and tissue browning in pears (*Pyrus communis* L. cvs Rocha and Conference) under controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology and Technology* 19, 129-137.
- Veltman, R. H. (2002) On the origin of internal browning in pears (*Pyrus communis* L. cv Conference). *Dissertação para obtenção do grau de doutor*. Universidade de Wageningen, Alemanha
- Wang, C. Y., Wang, P. C., 1989. Nondestructive detection of core breakdown in 'Bartlett' pears with nuclear magnetic resonance imaging. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 24, 106-109.
- Wang, Z., Dilley, D. R. (2000). Hypobaric storage removes scald-related volatiles during the low temperature induction of superficial scald of apples. *Postharvest Biology and Technology*. 18: 191-199.
- Waterhouse, A.L. (2002). *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 1.1.1- 1.1.8. John Wiley & Sons, Inc.

- Watkins, C. B., Bramlage, W. J., Cregoe, B. A. (1995). Superficial Scald of 'Granny Smith' Apples is Expressed as a Typical Chilling Injury. *Journal of the American Society for Horticultural Science*. 120:88-94
- Watkins, C.B., Nock, J.F., Whitaker, B.D. 2000. Responses of early, mid and late season apple cultivars to post-harvest application of 1-methylcyclopropene under air and controlled atmosphere conditions. *Postharvest Biology Technology* 19:17-32.
- Whitaker, B. D. (2004) Oxidative stress and superficial scald of apple fruit. *HortScience*. 39: 933-937
- Wild, H., Otma, E., Peppelenbos, H. (2003). Carbon dioxide action on ethylene biosynthesis of preclimacteric and climacteric pear fruit. *Journal of Experimental Botany*. 54 (387), 1537–1544.
- Xuan, H., Streif, J., Pfeffer, H., Dannel, F., Römhild, H., Bangerth, F. (2001) Effect of pre-harvest boron application on the incidence of CA-storage related disorders in "Conference" pears. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 76, pp.133–137.
- Xuan, H., J. Streif, A.A. Saquet, F. Bangerth (2003) Boron application affects respiration and energy status of "Conference" pears during CA-storage. In *Acta Horticulturae*. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium, pp. 167–174.
- Yahia, E. M., (2009). *Modified and Controlled Atmospheres for the Storage, Transportation, and Packaging of Horticultural Commodities*. Boca Raton: CRC Press
- Yoruk, R., Marshall, M.R., (2003). Physicochemical properties and function of plant polyphenol oxidase: a review. Institute of Food and Agricultural Sciences. Food Science and Human Nutrition Department. University of Florida
- Zagory, D., Kader, A. (1988). Modified atmosphere packaging of fresh produce. *Food Technology*, 42(8), 70-74 e 76-77.
- Zanella, A. (2003) Control of apple superficial scald and ripening—a comparison between 1-methylcyclopropene and diphenylamine postharvest treatments, initial low oxygen stress and ultra low oxygen storage. *Postharvest Biology and Technology*. 27(1): 69-78.
- Zanella, A., Cazzanelli, P., Panarese, A., Coser, M., Chistè, C. and Zeni, F. (2005). Fruit fluorescence response to low oxygen stress: modern storage technologies compared to 1-MCP treatment of apple. *Acta Hort.* 682, 1535-1542
- Zerbini, P. E., Rozzolo, A., Brambilla, A., Grassi, M. (2002a). Loss of ascorbic acid during storage of Conference pears in relation to the appearance of Brown heart. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 82, 1-7.
- Zerbini, P., Grassi, M., Cubeddu, R., Pifferi, A., Torricelli, A. (2002b) Nondestructive detection of brown heart in pears by time-resolved reflectance spectroscopy. *Postharvest Biology and Technology*, 25, 87–97
- Ziosi, V., Noferini, M., Fiori, G., Tadiello, A., Trainotti, L., Casadoro, G., & Costa, G. (2008). A new index based on vis spectroscopy to characterize the progression of ripening in peach fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3), 319–329.
- Zude, M., Herold, B., Roger, J.M., Bellon-Maurel, V., Landahl, S. (2006). Non-destructive tests on the prediction of apple fruit flesh firmness and soluble solids content on tree and in shelf life. *Journal of Food Engineering* 77: 254-260.

Zude-Sasse, M., Truppel, I., Herold, B. (2002). An approach to non-destructive apple fruit chlorophyll determination. *Postharvest Biology and Technology* 25: 123-133.

Anexos

Anexo 1.



(a)



(b)



(c)

Figura A30 - Parcelas (a) "Barreiras", (b) "Freiria" e (c) "Tamuge" com respectiva unidade de experimentação assinalada a vermelho. Fonte: GoogleMaps

Quadro A24 - Caracterização dos pomares da unidade de experimentação

Pomar	Nome	Ano de Plantação	Densidade (m)
A	Barreiras da Bica	2007	4 x 1,2
B	Quinta da Freiria	1999	4 x 1,5
C	Tamuge	1998	4 x 1,5

Quadro A25 - Análise sumária dos solos dos pomares envolvidos no estudo. Fonte: Pomar A e B analisado em 2015 pela UTAD. Pomar C analisado em 2015 pela EOR.

Pomar	M.O.	pH	Textura	Elementos Grosseiros	Calcário Total
A	1,3	7,1	Franco	63 %	0
Classificação	Baixo	Neutro	Média		Não Calcário
B	0,41	6,8	Franco-Arenosa	82%	0
Classificação	Muito Baixo	Neutro	Grosseira		Não Calcário
C	2,62	7,2	Argilosa	1,42%	0
Classificação	Médio	Neutro	Fina		Não Calcário

Quadro A26 - Análise do complexo de troca dos pomares envolvidos no estudo. Fonte: Pomar A e B analisado em 2015 pela UTAD. Pomar C analisado em 2015 pela EOR.

Pomar	Complexo de Troca				
	CTC (me/100g)	GSB	Ca (me/100g)	Bases Troca Mg (me/100g)	K (me/100g)
A	8,07	100%	5,84	1,41	0,22
Classificação	Baixo	Muito Alto	Médio	Médio	Baixo
B	6,75	100%	4,28	1,56	0,37
Classificação	Baixo	Muito Alto	Baixo	Médio	Médio
C	55,92	100%	48,2	6,94	0,65
Classificação	Muito Alto	Muito Alto	Alto	Médio	Médio

Quadro A27 - Análise dos micronutrientes e macronutrientes do solo dos pomares envolvidos no estudo. Fonte: Pomar A e B analisados em 2015 pela UTAD. Pomar C analisado em 2015 pela EOR.

Pomar	Micronutrientes					Macronutrientes	
	B	Fe	Mn	Zn	Cu	P	K
	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm	ppm
A	0,88	39,6	11,1	1,1	1,74	165	101
Classificação	Médio	Muito Alto	Médio	Médio	Alto	Alto	Alto
B	0,45	63,9	5,5	1	3,54	201	161
Classificação	Baixo	Muito Alto	Baixo	Baixo	Alto	Muito Alto	Alto
C	1,53	70	124	2,6	11,6	119	280
Classificação	Alto	Muito Alto	Muito Alto	Médio	Alto	Alto	Muito Alto

Quadro A28 - Análises foliares, aos teores de macronutrientes, dos pomares envolvidos no estudo. Fonte: Pomar A e B analisado em 2015 pela UTAD. Pomar C analisado em 2015 pela EOR.

Pomar	Macronutrientes					
	N	P	K	Ca	Mg	S
	g/Kg	g/Kg	g/Kg	g/Kg	g/Kg	g/Kg
A	27,6	2,6	17,4	12,6	3,6	1,5
Classificação	Elevado	Elevado	Elevado	Baixo	Adequado	Baixo
B	18,6	1,9	16,6	23,1	4,5	1,8
Classificação	Baixo	Adequado	Elevado	Elevado	Adequado	Adequado
C	21,3	0,3	9,5	18,6	9,2	0,5
Classificação	Adequado	Baixo	Adequado	Adequado	Alto	Baixo

Quadro A29 - Análises foliares, aos teores de micronutrientes, dos pomares envolvidos no estudo. Fonte: Pomar A e B analisado em 2015 pela UTAD. Pomar C analisado em 2015 pela EOR

Pomar	Micronutrientes					
	B	Fe	Cu	Zn	Mn	Mo
	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg	mg/Kg
A	36	63	11	28	6	0,38
Classificação	Adequado	Adequado	Adequado	Baixo	Muito Baixo	Adequado
B	32	98	9	34	58	0,3
Classificação	Adequado	Adequado	Adequado	Adequado	Adequado	Adequado
C	26	32	57	11	59	0,4
Classificação	Adequado	Baixo	Alto	Baixo	Adequado	Adequado

Quadro A30 - Análises aos frutos, ao conteúdo em matéria seca e macronutrientes. Fonte: Análises efetuadas em 2015 pelo laboratório Kudam

Pomar	Matéria Seca %	Macronutrientes					
		N mg/Kg	P mg/Kg	K mg/Kg	Ca mg/Kg	Mg mg/Kg	Na mg/Kg
A	14,2	1150	75,9	1170	58	61,1	25,3
B	12,1	1210	63,5	1140	49,5	53,3	28,5
C	14,9	1060	75,5	1100	63,9	60,6	24,7

Quadro A31 - Análises aos frutos, ao conteúdo em micronutrientes. Fonte: Análises efetuadas em 2015 pelo laboratório Kudam

Pomar	Micronutrientes				
	B mg/Kg	Fe mg/Kg	Cu mg/Kg	Zn mg/Kg	Mn mg/Kg
A	1,32	2,55	3,28	11,6	<2
B	1,81	2,81	3,71	12,0	<2
C	2,07	1,83	2,43	4,86	<2

Anexo 2.

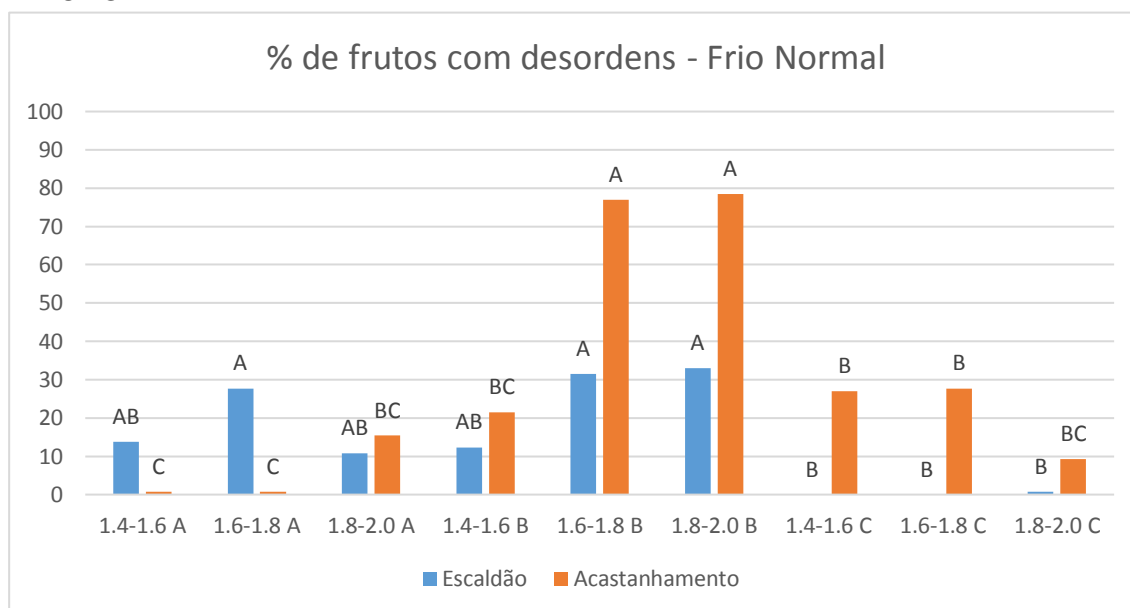


Figura A31 – Percentagem de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD} conservados em atmosfera de frio normal. $N=130$ frutos. Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes.

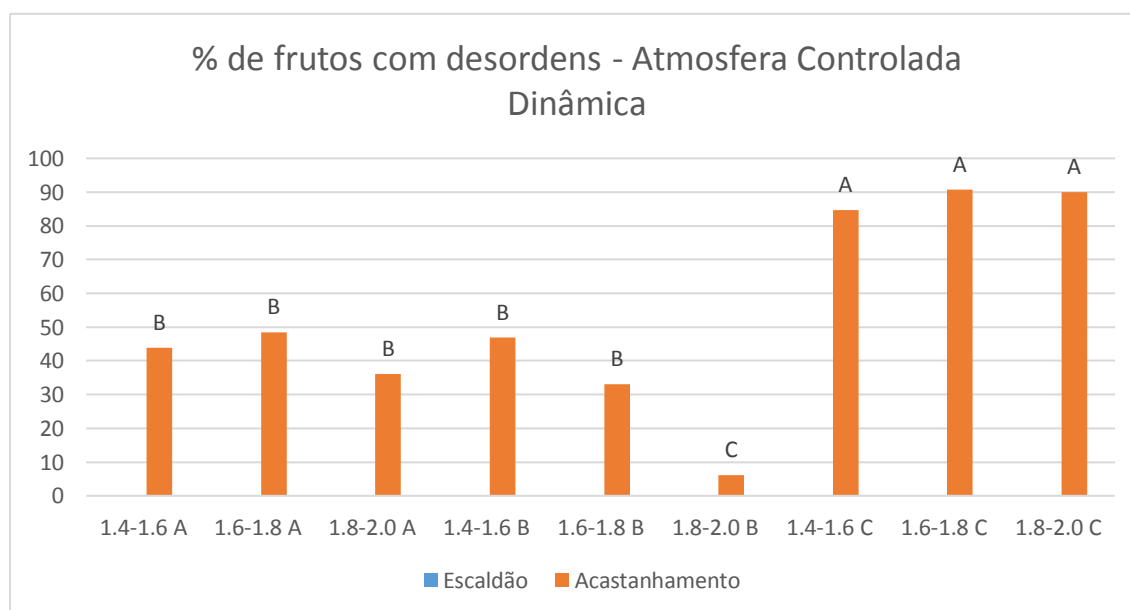


Figura A32 – Percentagem de desordens fisiológicas para frutos de 3 pomares segregados em 3 classes de I_{AD} conservados em atmosfera controlada dinâmica. $N=130$ frutos. Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes indicam valores estatisticamente diferentes.